

DARSTELLUNG UND KENNZEICHNUNG
VON AMORPHEN DIGOXIN-
SPRÜHTROCKNUNGSPRODUKTEN
UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE
GEWINNUNG FESTER
DARREICHUNGSFORMEN MIT HOHER
BIO-VERFÜGBARKEIT

von
Bernd Dölle
aus Wanfried

1981 № 470

**DARSTELLUNG UND KENNZEICHNUNG
VON AMORPHEN DIGOXIN-
SPRÜHTROCKNUNGSPRODUKTEN
UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE
GEWINNUNG FESTER
DARREICHUNGSFORMEN MIT HOHER
BIO-VERFÜGBARKEIT**

Den Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen - Nürnberg

zur

Erlangung des Doktorgrades

vorgelegt von

Bernd Dölle

aus Wanfried

Als Dissertation genehmigt von den
Naturwissenschaftlichen Fakultäten der Universität
Erlangen-Nürnberg



Tag der mündlichen Prüfung: 24. November 1981

Vorsitzender der

Promotionskommission : Prof. Dr. H. Wegener

Erstberichterstatter : Prof. Dr. E. Nürnberg

Zweitberichterstatter : Prof. Dr. O. Dann

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit vom August 1978 bis September 1981 im Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie, der Universität Erlangen-Nürnberg ausgeführt.

Meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. E. Nürnberg, danke ich herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit, sein Interesse an ihrem Fortgang und für viele wertvolle Ratschläge bei ihrer Durchführung.

Herrn Prof. Dr. J.M. Bafort, Rijksuniversiteit Antwerpen, danke ich für die Unterstützung bei der Durchführung der Tierversuche.

Herrn Prof. Dr. E. Lang, Chefarzt der Inneren Abteilung des Waldkrankenhauses in Erlangen, danke ich für die Möglichkeit der Durchführung von humanpharmakokinetischen Untersuchungen im Carl-Korth-Institut für Herz- und Kreislaufforschung in Erlangen.

Der Firma E. Merck, Darmstadt, insbesondere Herrn Dr. F. Loebich, danke ich für die freundliche Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Ferner danke ich den Firmen BASF, Ludwigshafen, Degussa, Frankfurt, DOW Chemical, Stade-Brunshausen, Henkel, Düsseldorf und Lehmann & Voss, Hamburg, für die Überlassung von Untersuchungsmaterial.

Der Firma Wilhelm Fette, Schwarzenbek, möchte ich für die Gelegenheit zu den Versuchen an einer Hochleistungsrundlaufpresse in ihrem Technikum danken.

Frau Schuster, Institut für Werkstoffwissenschaften, danke ich für die Anfertigung der REM-Aufnahmen.

Mein besonderer Dank gilt den Mitarbeitern des Lehrstuhls für Pharmazeutische Technologie, Herrn Dr. D. Schenk für die Entwicklung der Rechner-Programme, Frl. L. Schedl und Herrn W. Müller für die Ausführung photographischer und feinmechanischer Arbeiten.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Warenschutzgesetzgebung als frei zu betrachten wären.

Nach dem Gesetz über die Einheiten im Meßwesen vom 2.7.1969, geändert am 6.7.1973, ist die offizielle Einheit für Temperaturangaben Kelvin (K). Zum besseren Verständnis sind im Text die Werte der Celsiusskala in Klammern beigegefügt.

Meinen Eltern gewidmet



Digitized by the Internet Archive
in 2026

DARSTELLUNG UND KENNZEICHNUNG VON AMORPHEN DIGOXIN-SPRÜH- TROCKNUNGSPRODUKTEN UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE GEWINNUNG FESTER DARREICHUNGSFORMEN MIT HOHER BIOVERFÜGBARKEIT

1.	E i n l e i t u n g	1
1.1	Digoxin als Prototyp eines Arzneimittels mit unterschiedlicher Bioverfügbarkeit	1
1.1.1	Praktische Bedeutung	5
1.1.2	Therapeutische Bedeutung	6
1.2	Galenische Möglichkeiten zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Digoxin	8
1.3	Andere, die Resorption von Digoxin beein- flussende Faktoren	10
1.4	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	11
2.	D e r W i r k s t o f f	12
2.1	Vorkommen und Gewinnung	12
2.2	Chemie der Cardenolide	12
2.3	Eigenschaften des Digoxins	14
2.3.1	Deutungsversuche der Wirkstoffeigenschaften durch Aufstellen von fünf Arbeitshypothesen	16
2.4	Herstellung und Beschreibung der unter- suchten Digoxin-Proben	20
2.4.1	<u>Kristallines Ausgangsmaterial</u>	20
2.4.1.1	Kritische Betrachtungen zur Röntgenbeugungs- analyse	28
2.4.2	<u>Mikronisierte</u> Digoxin-Proben	32
2.4.2.1	Herstellung	32
2.4.2.2	Röntgendiffraktometrische Untersuchungen	33
2.4.2.2.1	Bemerkungen zur "Zweiphasenstruktur" mikro- nisierter Digoxin-Proben	37
2.4.2.3	IR-Untersuchungen	39
2.4.2.4	DTA- und TG-Untersuchungen	41
2.4.2.5	REM-Untersuchungen	44

2.4.2.6	Bestimmung des Lösungsverhaltens	45
2.4.2.6.1	Kritische Betrachtungen zum benutzten Auflösungsmodell	50
2.4.2.7	Zusammenfassung der bei mikronisierten Proben erhaltenen Ergebnisse	51
2.4.3	<u>Amorphes</u> Digoxin	52
2.4.3.1	Herstellung durch Sprühtrocknung	52
2.4.3.2	Physikalische Untersuchungen	53
2.4.3.2.1	In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeit	57
2.4.3.2.2	Thermoanalytische Untersuchungen	60
2.4.3.2.3	Bestimmung der Glasumwandlungstemperatur T_G	68
2.4.4	<u>Tribomechanisch</u> behandeltes <u>gesprühtes</u> Digoxin	75
2.4.4.1	Herstellung	75
2.4.4.2	Physikalische Untersuchungen unter besonde- rer Berücksichtigung von Röntgenkleinwinkel- aufnahmen	76
2.4.4.2.1	Thermoanalytische Untersuchungen	83
2.5	<u>Zusammenfassung</u> und <u>Diskussion</u> der bisher ermittelten Versuchsergebnisse	91
2.5.1	Praktische Relevanz der ermittelten Ver- suchsdaten	99
3.	Das p a r a k r i s t a l l i n e Digoxin	100
3.1	Der <u>flüssig-kristalline</u> Stoffzustand	101
3.2	Polymorphie flüssig-kristalliner Phasen	102
3.3	Charakterisierung flüssig-kristalliner Phasen	102
3.4	<u>Spezielle Untersuchungen</u> am Digoxin	103
3.4.1	RD-REM-Untersuchungen	103
3.4.2	Polarisationsmikroskopische Untersuchungen	103
3.4.3	DTA-Untersuchungen	106
3.4.4	Zusammenfassung	108
4.	Digoxin - S p r ü h e i n b e t t u n g	109
4.1	Auswahl der Hilfsstoffe	109
4.2	Abhängigkeit des In-vitro-Freisetzungsver- haltens vom Celluloseether-Typ	111

4.3	<u>Sprühtrocknung aus Wasser</u> mit geringem organischen Lösungsmittelanteil	116
4.3.1	Suspensions-Sprüheinbettung	116
4.3.2	Sprühtrocknung unter Verwendung einer <u>speziellen Zerstäubungseinrichtung</u>	119
4.3.3	Digoxin-Sprüheinbettungen von nur wasserlöslichen Kolloiden	122
4.3.4	Diskussion der Ergebnisse	123
4.4	Betrachtungen zur Wirkstoff-Liberation aus Kolloid-Sprüheinbettungen	125
4.4.1	Bestimmung der <u>oberflächenunabhängigen</u> Geschwindigkeitskonstanten	126
4.5	Messung der <u>Inhibierung</u> des Kristallwachstums von Digoxin	132
4.5.1	Trübungsgeschwindigkeitsmessung	132
4.5.2	Kontinuierliche röntgendiffraktometrische Ermittlung der Rekristallisation von amorphem Digoxin	137
4.6	Auswahl der zur Weiterverarbeitung benutzten Sprüheinbettung	139
5.	Formulierung einer <u>galenischen Zubereitung</u>	140
5.1	Überlegung zur Applikationsform	140
5.2	Problematik niedrigdosierter fester Arzneiformen	142
5.2.1	<u>Statistische Beziehungen</u> für die Berechnung der Gehaltseinheitlichkeit in niedrigdosierten, festen Arzneiformen	143
5.3	<u>Entwicklung</u> einer Tablettenrezeptur	145
5.3.1	Rezeptur und Verarbeitung von <u>Modell-Mischungen</u>	145
5.3.2	<u>Galenische Kennzahlen</u> der Modell-Mischungen	148
5.3.3	Verpressung von Modell-Rezepturen auf einer <u>Hochleistungsrundläufermaschine</u>	149

5.4	Herstellung und Prüfung der Digoxin- Tabletten - Verpressung auf der Exzen- terpresse -	153
5.4.1	Prüfung der Gehaltseinheitlichkeit	154
5.4.2	Prüfung des Freisetungsverhaltens	156
6.	P h a r m a k o k i n e t i s c h e Unter- suchung von Digoxin-Tabletten am Kaninchen	160
6.1	Versuchsdurchführung	161
6.2	Versuchsaufbau	163
6.3	Versuchsergebnisse	164
6.4	Diskussion der Untersuchungsbefunde	169
7.	I n - v i v o - Versuche am Menschen	172
7.1	Herstellung und Prüfung der Digoxin- Tabletten - Verpressung auf Rundläufer -	173
7.1.1	Galenische Kennzahlen	174
7.1.2	Gehaltseinheitlichkeit und In-vitro-Auflö- sungsgeschwindigkeit	176
7.2	<u>Human-Blutspiegel</u>	179
8.	S t a b i l i t ä t s u n t e r s u c h u n g e n	183
9.	A n h a n g	185
9.1	Arbeitsvorschrift: Herstellung von Digoxi- genin	185
9.2	Analysenbedingungen bei der dünnschicht- chromatographischen (DC) Untersuchung ver- schiedener Digoxin-Proben	185
9.3	Gehaltsbestimmung der Phenacetin-Modell- Sprüheinbettung	186
9.4	Gehaltsbestimmung der Digoxin-Sprüheinbettung	186
9.5	Einzeldosierungsgenauigkeit der Digoxin-Ta- bletten	187
9.6	Gleichgewichtsdialyse	188

9.6.1	Bestimmung der Sättigungskonzentration verschiedener Digoxin-Proben	189
9.7	Untersuchungen an Schüttgütern und Tablet- ten	189
9.8	Mathematische Ableitung zur Berechnung pharmakokinetischer Parameter bei Annahme eines Zwei-Kompartiment-Modelles	191
9.9	Verwendete Geräte	192
9.10	Verwendete Materialien	196
10.	Z u s a m m e n f a s s u n g	197
	Literaturverzeichnis	200
	Lebenslauf	219

1. Einleitung

1.1 Digoxin als Prototyp eines Arzneimittels mit unterschiedlicher Bioverfügbarkeit

Als die Arbeitskreise von LINDENBAUM (1) und MANNINEN (2) 1971 die ersten Ergebnisse über eine unzureichende Bioverfügbarkeit* verschiedener Digoxin-Handelspräparate veröffentlichten, lösten sie durch ihre Publikationen eine Betroffenheit vor allem bei der amerikanischen Gesundheitsbehörde (FDA) aus. Zwar hatte eine im Auftrag der FDA (3) 1971 erstellte umfassende Studie über die Gehaltseinheitlichkeit von Digoxin-Handelspräparaten erhebliche Unterschiede gezeigt, doch konnte sich bis zu diesem Zeitpunkt niemand vorstellen, daß auf dem Markt befindliche, therapeutisch bedeutende Herzglykosid-Zubereitungen trotz einwandfreier Qualität des Wirkstoffes bezüglich Identität und Gehalt unwirksam sein sollten.

*Die biologische Verfügbarkeit eines Wirkstoffes aus einer Zubereitung ist als die Geschwindigkeit und das Ausmaß zu definieren, mit denen ein Wirkstoff in das Blutkompartiment resorbiert wird oder am Ort der Wirkung vorliegt (FDA 1973 (5)).

Biologische Verfügbarkeit und enterale Resorption sind keine identischen Begriffe (6).

Die therapeutische Inäquivalenz wird aus Abbildung 1 deutlich, in der der zeitliche Verlauf der Serum-Glykosid-Konzentration nach Applikation verschiedener britischer Digoxin-Tabletten wiedergegeben ist.

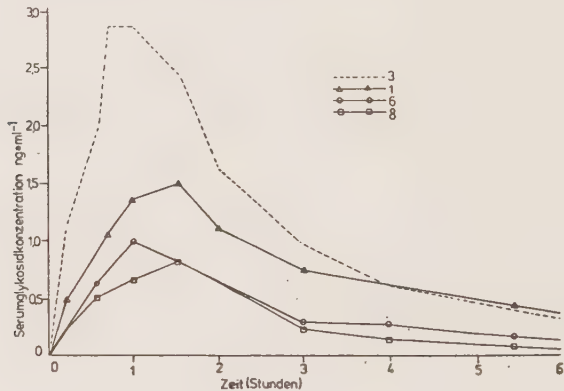


Abb. 1 Serum-Glykosid-Konzentration verschiedener britischer Digoxin-Tablettenpräparate nach FRASER (4).

(Applizierte Dosis jeweils 0,5 mg Digoxin)

Da Digoxinzubereitungen seit über 200 Jahren in der Therapie gegen Herzinsuffizienz eingesetzt werden (7), glaubte man, nachdem SMITH 1936 das Reinglykosid isoliert hatte und dieses daraufhin in der Praxis Anwendung fand, an die therapeutische Gleichwertigkeit* dieser Präparate. Zahlreiche Publikationen in den 70er Jahren, vor allem im englischen Sprachraum, bewiesen jedoch, daß der therapeutische Wert von Digoxinzubereitungen entscheidend von der galenischen Formulierung abhängig ist.

*Therapeutisch ungleichwertig sind solche Produkte, die trotz chemisch identischer Wirkstoffmengen klinische Unterschiede in der Wirksamkeit aufweisen.

Dieser Zusammenhang zwischen pharmazeutischem Herstellungsprozeß und Bioverfügbarkeit wurde besonders in dem von SHAW et al. (8) als "the digoxin affair" beschriebenen Vorfall deutlich: Ende 1969 änderte aus technischen Gründen die britische Burroghs Wellcome Company ihre Herstellungsvorschrift für die Produktion von Digoxin-Tabletten (Lenoxin®). Diese Umstellung hatte eine zur damaligen Zeit nicht erkannte Verschlechterung der Bioverfügbarkeit zur Folge. Erst als im Mai 1972 eine erneute Änderung des Herstellungsverfahrens erfolgte, um eine bessere Einzeldosierung des Glykosids zu erzielen, bemerkte man, daß sich nicht nur die Gleichförmigkeit der Dosierung, sondern auch die Bioverfügbarkeit entscheidend verbessert hatte (8,9,10,11,12,13,14). Abbildung 1 gibt ebenfalls diesen Sachverhalt in den Kurven 1 und 8 (1 = "new"; 8 = "old" Lenoxin®) wieder.

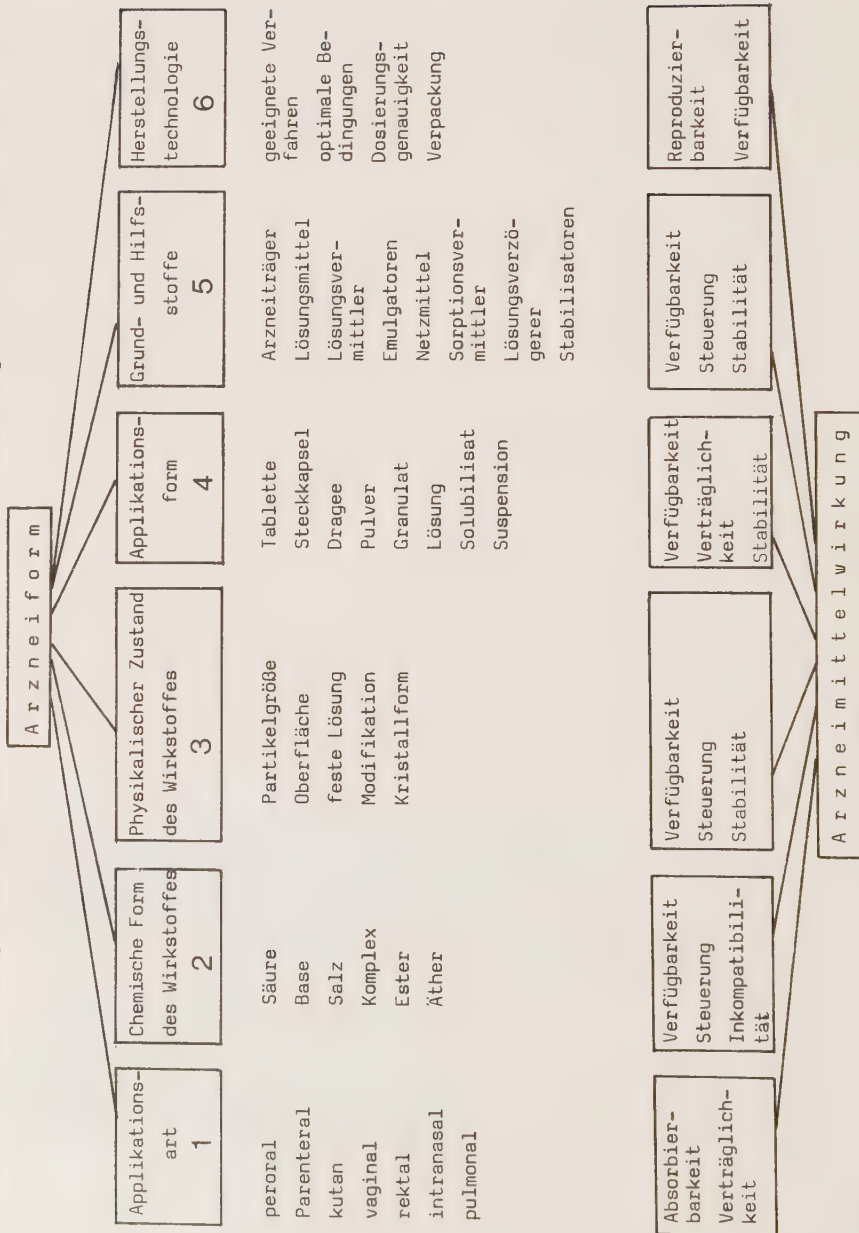
Diese Erkenntnis und vergleichbare Vorfälle bei anderen Arzneisubstanzen, wie Dicumarol (15), Phenytoin (16,17,18), Chloramphenicol (19,20), Oxytetracyclin (21), Tetracyclin (22), Prednisolon (23,24) und Paraaminosalicylsäure (25) veranlaßten schließlich die FDA 1974 (26) Vorschriften zu erlassen, die zu bioäquivalenten Präparaten, d.h. Arzneimitteln von gleicher biologischer Verfügbarkeit, führen sollten.

Welche Faktoren bestimmen aber solche Beziehungen zwischen Arzneiform und Resorption, d.h. worin liegen die Ursachen für die beschriebenen Unterschiede der Bioverfügbarkeit und gibt es allgemeine Regeln, die erkennen lassen, daß ein Arzneistoff Bioverfügbarkeitsprobleme aufweisen wird?

Wie Tabelle 1 zeigt, lassen sich für den Galeniker die Beziehungen zwischen technologischer Formulierung der Arzneiform und der Arzneimittelwirkung, insbesondere der biologischen Verfügbarkeit, in sechs Gruppen schematisch aufgliedern.

Tabelle 1

Beziehung zwischen Arzneiform und Arzneimittelwirkung modifiziert nach THOMA (27)



Im Rahmen der folgenden Ausführungen mußte den Punkten 3, 5 und 6 besondere Aufmerksamkeit beigemessen werden.

Aus Tabelle 2 kann man die Eigenschaften entnehmen, die ein Stoff aufweist, der Bioverfügbarkeitsprobleme erwarten läßt.

Tabelle 2

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">1. Schlechte Wasserlöslichkeit2. Niedrige Dosierung3. Geringe therapeutische Breite;
steile Dosis-Wirkungskurve4. Verminderte Freisetzung aus Komprimaten |
|--|

Da alle in der Tabelle 2 aufgeführten Punkte für Digoxin zutreffen, kann man Digoxin-Tabletten als Prototyp einer Zubereitung mit Verfügbarkeitsproblemen bezeichnen.

Somit ist es nicht verwunderlich, daß die Literaturangaben über die absolute Bioverfügbarkeit von Digoxin-Tablettenpräparaten zwischen 50 und 82 Prozent schwanken (siehe Übersichtsarbeit NYBERG (28) und (29)). Welche praktische und klinische Bedeutung haben nun die Verfügbarkeitsprobleme verschiedener Digoxin-Handelspräparate?

1.1.1 Praktische Bedeutung

Aus den statistischen Unterlagen der RVO-Kassen geht hervor, daß die Medikamente, die zur Therapie von Herz- und Kreislaufkrankheiten dienen sollen, mit 24,4 Prozent der Gesamtkosten und 18 Prozent der Verordnungen den größten Einzelkomplex darstellen (30). Nach Angaben des Arznei-Telegramms 3/75 gehören vier Präparate, die Herzglykoside enthalten, zu der Gruppe der fünfzig meistverkauften Arzneyspezialitäten der Bundesrepublik mit einem Gesamtumsatz im ersten Halbjahr 1974 von DM 91 200 000. Aus diesen Fakten wird die wirt-

schaftliche Bedeutung einer Digitalistherapie ersichtlich; darüber hinaus ist die therapeutische Relevanz gut verfügbarer Digoxinpräparate viel höher einzuschätzen.

1.1.2 Therapeutische Bedeutung

Herzglykoside wie Digoxin besitzen vier Wirkungsqualitäten am insuffizienten Herzen (31):

- Zunahme der Anstiegsgeschwindigkeit des Herzkammerdruckes.
- Verlängerung der Diastole.
- Erhöhung des ventrikulären Spitzendrucks.
- Herabsetzung des enddiastolischen Drucks.

Diesen Effekten liegen die positiv inotrope und negativ chronotrope Wirkung zugrunde, die letztlich als Folgen einer Wirkung des ionisierten Calciums im Zytoplasma und an den Zellmembranen zu erklären sind. Die biochemische Ursache ist wahrscheinlich eine Enzymhemmung durch die Genine (32) (Abbildung 2).

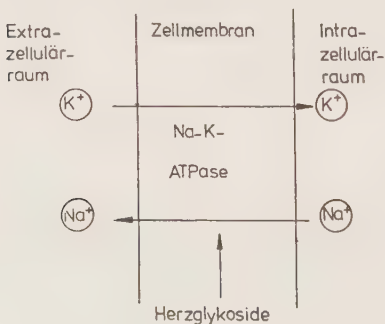


Abb. 2

Biochemische Ursache
der Digoxin-Wirkung

Weiter werden negativ dromotrope Wirkungen (Abnahme der Erregungsleitungsgeschwindigkeit) beobachtet, die auch als Calciumeffekte zu interpretieren sind (33).

Extracardiale Wirkungen betreffen das parasympathische System (N. vagus) und sind meist Zeichen einer Digitalisintoxikation, die nach Angaben von DOERING und KÜNIC (34) bei 15 bis 20 Prozent aller digitalisierten Patienten auftreten, wobei die Letalität 3 bis 21 Prozent beträgt. Bei einer Digitalisierungsquote von 5,3 Prozent der Gesamtbevölkerung in der Bundesrepublik Deutschland ergibt sich somit, daß mindestens 300 000 bis 400 000 Digitalispatienten an Überdosierungserscheinungen erkrankt sein dürften (35).

Da Dosis und Plasmakonzentration eines Digoxin-Präparates in einer linearen Beziehung ($r = 0,783$ $p < 0,01$)* zueinander stehen (36), die Bioverfügbarkeit im Bereich von 0,35 - 2,0 mg unabhängig von der applizierten Dosis ist (37) und sich therapeutische und toxische Serumglykosidkonzentration im Plasma im Bereich von 2 - 3 ng/ml überschneiden (38,39), müßte eine verfahrenstechnisch bedingte Verbesserung der Resorption dieses Glykosids eine erhebliche Steigerung der Therapiesicherheit zur Folge haben.

Angemerkt sei die Tatsache, daß die aufgeführten Erkenntnisse über den solange schon therapeutisch genutzten Wirkstoff möglich wurden, seit hochempfindliche Analysenmethoden, wie Radioimmunoassay (RIA), Enzymimmunoassay (EIA) und Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) zur Verfügung stehen. Erst diese Bestimmungsmöglichkeiten in den Körperflüssigkeiten erlauben es, exaktere Informationen über das Schicksal des Glykosids im lebenden Organismus zu erhalten.

Diese pharmakokinetischen Kenntnisse mußten zwangsläufig die gesamte Problematik der Digoxin-Therapie aufzeigen und somit

*

r = Korrelationskoeffizient
 p = Wahrscheinlichkeit

$$r_{\text{test}} = \left(\frac{t^2}{t^2 + df} \right)^{1/2}$$

t = tabellierter statistischer Faktor
 df = Anzahl der Freiheitsgrade

Wegbereiter einer positiven pharmazeutisch-technologischen Beeinflussung des Wirkstoffes sein.

1.2 Galenische Möglichkeiten zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Digoxin

Die Resorptionsquoten der therapeutisch genutzten Herzglykoside nach peroraler Gabe sind sehr unterschiedlich (31). Während man für Digitoxin eine praktisch vollständige Resorption postuliert, schwanken die Werte für Digoxin, wie bereits erwähnt, zwischen 50 und 82 Prozent. Eine perorale Strophantin-Therapie gilt heute als obsolet (139,140), da der Wirkstoff nur zu 6 - 8 Prozent aus dem Magen-Darm-Trakt resorbiert wird.

Diese Tatsache verdeutlicht, warum es das Ziel der vorliegenden Arbeit war, Digoxin mit Hilfe verfahrenstechnischer Maßnahmen zu optimieren. Eine Beschäftigung mit den anderen genannten Glykosiden erscheint unter den pharmakokinetischen Gesichtspunkten als wenig sinnvoll.

Welche galenischen Möglichkeiten bieten sich an, um die ungenügende bzw. schwankende Absorbierbarkeit von Digoxin zu optimieren?

Der Arbeitskreis von SHAW (40) berichtete 1972 über einen bemerkenswerten Anstieg der Digoxinkonzentration im Plasma, nach dem schlecht resorbierbare Tabletten gemahlen und das resultierende Pulver in Form von Hartgelatine kapseln appliziert wurde. Ähnlich wie bei den Problemwirkstoffen Spironolacton (41) und Griseofulvin (42) konnten SHAW et al. (43) sowie JOUNELA et al. 1975 (44) die Bedeutung der Partikelgröße für die Bioverfügbarkeit von Digoxin nachweisen. Durch die Wirkstoffmikronisierung erhält man ein Produkt großer spezifischer Oberfläche mit hoher Lösungsgeschwindigkeit und der Tendenz zur Bildung übersättigter Lösungen.

Höhere Resorptionsquoten ergeben sich auch bei

- der Applikation von Digoxin-Lösungen (45,46,47, 48,49,50,51)
- der Verkapselung (52,53,54,55,56,57,58,59,60) von gelöstem Digoxin, z.B. in Polyäthylenglykol bzw. 1.2-Propandiol (61,62)
- der Darstellung von Feststoffdispersionen bzw. "solid solutions", des Digoxins mit Hydroxyalkyl-xanthinen (63,64) oder Polyäthylenglykolen verschiedenen Molekulargewichtes (65)
- der Komplexierung des Digoxins mit Hydrochinon (66,67)
- der Einarbeitung von Digoxin in ein Kopräzipitat aus Poloxamer 181* (68) und Polyvinylpyrrolidon (PVP) (69) nach der Lösungsmethode
- der Verreibung von Digoxin mit Milchzucker (70)
- dem Aufziehen von Digoxin auf hochdisperse Kieselsäure (29,71)
- dem Herstellen einer Digoxin-Sprüheinbettung mit indifferenten Makromolekülen (72,73).

Allen Verfahren gemeinsam ist der Versuch, ein System mit möglichst vorteilhaften Lösungseigenschaften zu gewinnen.

*Block-Polymerisat aus Äthylenoxid und Propylenoxid mit einem mittleren Molekulargewicht von ca. 8000 und einer Wasserlöslichkeit von ca. 10 Prozent.

1.3 Andere die Resorption von Digoxin beeinflussende Faktoren

Neben den genannten Methoden zur Begünstigung pharmakokinetischer Parameter beeinflussen aber noch die im folgenden aufgeführten Faktoren die Bioverfügbarkeit von Digoxin:

- Gastrointestinale Motilität
Eine erhöhte Magen-Darm-Peristaltik, z.B. induziert durch das Antiemetikum Metoclopramid, vermindert die Resorptionsquote (74).
- Nahrungsaufnahme
Höhere Blutspiegelwerte wurden bei nüchternen Probanden ermittelt (75,76,77).
- Ethanol
Eine Abnahme der Serumglykosidkonzentration wurde beobachtet (78).
- Digoxin-Malabsorption (79,80,81,82).
- Arzneimittelinteraktionen (83,84,85,86,87,88,89,90,91).
- Säurehydrolyse des Glykosids durch den Magensaft (92,93).

Außerdem müssen bei der Therapie mit Digoxin noch das Alter sowie die Nierenfunktion der Patienten berücksichtigt werden. Diese Faktoren haben zwar keinen Einfluß auf die Resorption des Glykosids, jedoch wird die Höhe des Blutspiegels entscheidend beeinflusst: Da Digoxin zu 80 - 90 Prozent unverändert über die Niere ausgeschieden wird, muß die Dosis bei eingeschränkter Nierentätigkeit gesenkt werden, um toxische Serumglykosidkonzentrationen zu vermeiden (94). Ebenso muß die Erhaltungsdosis bei älteren Menschen gesenkt werden, da die Pharmakokinetik des Glykosids infolge veränderter anatomischer und physiologischer Verhältnisse beeinflusst wird (95).

1.4 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

Angesichts der aufgeführten Unterschiede in der absoluten Bioverfügbarkeitsquote (50 bis 82 Prozent) von Digoxin-Tablettenpräparaten war es Ziel dieser Arbeit, eine perorale Arzneiform zu entwickeln, die den Wirkstoff in einer festen hoch-energetisch aber stabilen Zustandsform enthält.

Diese Arzneizubereitung mit einer besonders günstigen Wirkstofffreigabegeschwindigkeit sollte möglichst über 80 Prozent bioverfügbar sein, um somit die *T h e r a p i e s i c h e r - h e i t* zu erhöhen. Nach RIETBROCK et al. hat eine optimale Resorption des Digoxins eine geringere inter- und intraindividuelle Schwankung der Serumglykosidkonzentration zur Folge (96). Ein starkes Differieren der Blutspiegelwerte ist wegen der geringen therapeutischen Breite des Wirkstoffes äußerst unerwünscht.

Versuche unseres Arbeitskreises zur Verbesserung der Bioverfügbarkeit von Griseofulvin (97) und Nitrofurantoin (98) hatten den Beweis erbracht, daß man durch Sprüheinbettung dieser schwer wasserlöslichen Wirkstoffe in wasserlösliche makromolekulare Träger Produkte erhält, die sich in wichtigen physikalisch-chemischen Eigenschaften – insbesondere in ihrem Lösungsverhalten – von den Ausgangssubstanzen vorteilhaft unterscheiden.

Daher sollten durch Versprühen einer Digoxin-Lösung, in Gegenwart von indifferenten Hilfsstoffen, Systeme entwickelt werden, die den oben genannten Forderungen entsprechen.

Zunächst war es notwendig, die physikalisch-chemischen Eigenschaften des eingesetzten Glykosids genauer zu untersuchen, um mögliche Änderungen als Folge der galenischen Wirkstoffoptimierung zu erkennen.

2. Der Wirkstoff

2.1 Vorkommen und Gewinnung

Digoxin, ein Glykosid verschiedener *Digitalis*-Arten aus der Familie der Scrophulariaceae (99), wird hauptsächlich durch Extraktion aus den Blättern des wolligen Fingerhutes (*Digitalis lanata*) gewonnen. Wie Digitoxin ist Digoxin bereits ein Abbauprodukt des ursprünglich in der Pflanze vorhandenen Hauptglykosids Lanatosid C (100). Da eine völlige Abtrennung aller Begleitglykoside sehr aufwendig und somit auch unwirtschaftlich wäre, enthält handelsübliches Digoxin stets noch Nebenglykoside (ca. 5 %), hauptsächlich Gitoxin und Digitoxin, die von den Arzneibüchern mit verschiedenen Methoden nachgewiesen und prozentual begrenzt werden.

Obwohl die Biosynthese der Herzglykoside noch nicht vollständig geklärt ist, kann man folgende Teilschritte als gesichert ansehen: Ausgangssubstanz ist Lanosterol (C 30), das zum Pregnan (C 21) abgebaut und durch Essigsäure zum Cardenolid (C 23) ergänzt wird (101).

Eine wissenschaftlich interessante, technisch aber zur Zeit noch nicht praktikable Methode zur Gewinnung von Herzglykosiden ist in der Anlage von Zellkulturen zu sehen (101). In diesen Systemen sind vom Gewebeverband losgelöste Zellen in der Lage sich zu teilen, zu wachsen und auch Pflanzeninhaltsstoffe zu synthetisieren.

2.2 Chemie der Cardenolide

Die Cardenolide - Aglyka der Herzglykoside - sind Steroide (Abb. 3) und weisen als charakteristische Gruppe am C-Atom 17 einen α , β -ungesättigten Lactonring (Butenolidring) auf.

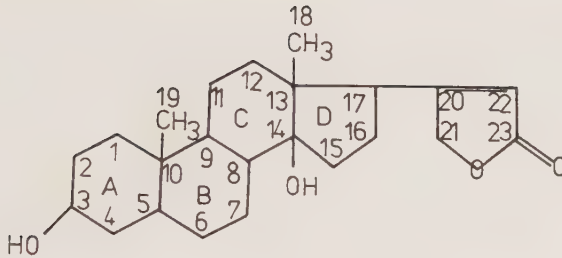


Abb. 3

Card-20(22)-enolid

Allen Cardenoliden gemeinsam sind die β -ständigen Hydroxylgruppen an den C-Atomen 3 und 14. An den C-Atomen 10 und 13 befinden sich β -ständige Methylgruppen. Die Ringe A/B und C/D sind cis-, die Ringe B/C trans-verknüpft (103). Die Biologische Wirkung der Cardenolide beruht auf dem Vorhandensein des α , β -ungesättigten Lactonringes, der β -ständigen Hydroxylgruppen und der cis-Verknüpfung der Ringe A und B (104). Für die therapeutische Verwendung spielen jedoch angesichts der ungenügenden Resorptionsfähigkeit nicht die Aglykone, sondern nur das intakte Glykosid eine Rolle.

Digoxin ($C_{41}H_{64}O_{14}$, 3 β ,12 β ,14 β -Trihydroxy-carden (20:22) olid-3-tridigitoxosid, MG 781) besitzt zusätzlich am C-Atom 12 eine weitere β -ständige Hydroxylgruppe und ist am C-Atom 3 β -glykosidisch mit einer Kette von 3 Molekülen D-Digitoxose verbunden. Abbildung 4 zeigt die vollständige Konformation des Glykosides.



Abb. 4 Konformation des Digoxin-Moleküls

2.3 Eigenschaften des Digoxins

Die Substanz wird im Europäischen Arzneibuch als weißes bis fast weißes Pulver oder farblose Kristalle beschrieben, die praktisch unlöslich in Wasser, schwerlöslich in Ethanol und Chloroform und leichtlöslich in einer Mischung von gleichen Volumteilen Chloroform und Methanol ist. Arzneibuchqualität besitzen diejenigen Proben, die einen Digoxingehalt von mindestens 95 Prozent und höchstens 103 Prozent aufweisen.

Überprüft man die einzelnen Pharmacopoen und die Literatur nach weiteren physikalischen Daten des Wirkstoffes, so findet man überraschend abweichende Angaben über das Schmelzverhalten des Glykosids (109). So schwanken, wie aus Tabelle 3 hervorgeht, die angegebenen Schmelzpunkte zwischen 500 - 548 K (227 ° und 275 °C). Auf diese Unterschiede wird im Verlaufe der weiteren Ausführungen näher eingegangen.

Tabelle 3

Gall. 1965	548 K	275 °C
U.S.P. XV	508 K	235 °C
B.P. 1958	513 K	240 °C
B.P.C. 1954	508 K	235 °C
Ph.Eur.-Kommentar	unspezifisch unter Zersetzung	
Martindale 26 th Edition	513 K	240 °C
Merck Index 9 th Edition	500 - 504 K	227 - 231 °C
Merck-Katalog 1980		
Artikel-Nr. 3047	513 - 528 K	240 - 255 °C
Dictionary of Organic Compounds	538 K	265 °C
Organische Analyse (106)	533 - 538 K	260 - 265 °C

FLORENCE und SALOLE (107) hatten bei DTA-Untersuchungen große Abweichungen im Schmelzverhalten verschiedener Digoxin-Chargen nachweisen können. Vor allem durch Mikronisierung teilweise oder gänzlich amorphisierte Proben unterschieden sich deutlich in den DTA-Kurven und im Auflöseverhalten von der kristallinen Ausgangssubstanz. Die Beeinflussung der Lösungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes durch die Partikelgröße hatte der Arbeitskreis um Florence schon 1974 postuliert (108). Bei weiteren Untersuchungen (109) konnten die Forscher den Nachweis erbringen, daß eine Deutung der erhöhten Wirkstoffauflösungsgeschwindigkeit lediglich durch die Verringerung der Teilchengröße und der dadurch bedingten großen Oberfläche des Digoxins die beschriebenen Phänomene nicht hinreichend erklären konnte. Ein Vergleich der Geschwindigkeitskonstanten beim Auflösen verschiedener Digoxin-Proben unterschiedlicher spezifischer Oberfläche - von $0,3$ bis $6,63 \text{ m}^2/\text{g}$ - zeigte dann jedoch, daß keine Korrelation zwischen beiden Parametern herzustellen war. Daher mußte auch in Betracht gezogen werden, daß es sich beim Digoxin um einen Stoff handeln könnte, der die Erscheinung der Polymorphie aufweist. Änderungen der Kristallmodifikation durch Mahlung waren für Chloramphenicol-Palmitat (110) und Sulfanilamid (111) in der Literatur bereits beschrieben und mittels IR- und röntgendiffraktometrischer Untersuchungen (RD) bewiesen worden. BLACK und LOVERING konnten jedoch für Digoxin 1977 bei Untersuchung verschiedener Proben keine Abweichungen im Röntgendiffraktogramm und im IR-Spektrum der einzelnen Substanzen feststellen, d.h. eine mögliche Polymorphie des Wirkstoffes nicht beweisen (112).

CHIOU und KYLE (113) stellten 1979 fest, daß die Auflösungsgeschwindigkeit verschieden vorbehandelter Digoxin-Chargen mit steigendem Schmelzpunkt der Probe abnahm. Die Autoren konnten nachweisen, daß bei diesen Substanzproben übersättigte Lösungen in Wasser gewonnen werden. Dabei handelt es sich naturgemäß um metastabile Systeme, deren Sättigungskonzentration in Lösung zeitabhängig abnahm.

Ferner wiesen CHIOU und KYLE durch Temper-Versuche an selbsthergestellten Digoxin-Tabletten die physikalische Instabilität des Wirkstoffes nach, indem sie feststellten, daß die Wirkstoffliberation in Abhängigkeit von der Temperatur und der Lagerdauer abnahm. Ob die verringerte Digoxin-Freigabe lediglich auf eine Veränderung der Arzneiform selbst - also nicht des Wirkstoffes - zurückzuführen ist, wurde nicht überprüft. Eine solche Beeinflussung durch die Arzneizubereitung hatte JOHNSON et al. (114) am Beispiel von Weichgelatinekapselformen nachweisen können.

NÜRNBERG hatte 1970 (115) durch Sprühtrocknung amorphes* Digoxin herstellen können. Die Existenz des amorphen Wirkstoffes hatte er durch Debye-Scherrer- und DTA-Untersuchungen bewiesen (116). Durch Mahlung in einem Mörser konnte er das erhaltene Produkt teilweise wieder rekristallisieren, d.h. die Instabilität solcher Substanzen gegenüber mechanischer Belastung aufzeigen.

2.3.1 Deutungsversuche der Stoffeigenschaften durch Aufstellen von fünf Arbeitshypothesen

Angesichts der aufgezeigten Unterschiede der physikalischen Eigenschaften verschieden vorbehandelter Digoxin-Proben stellt sich die Frage nach einer möglichen Erklärung.

In Tabelle 4 sind die Phänomene zusammengefaßt.

*Von amorphen Produkten spricht man, wenn kein Ordnungsprinzip im Sinne eines Bravais-Translationsgitters vorliegt (119).

Tabelle 4

Beschriebenes Phänomen	untersuchtes Produkt	Arbeitskreis
Abhängigkeit der Wirkstoffauflösegeschwindigkeit von der Teilchengröße	Digoxin kristallin	Florence, Salole, Stenlake (1974)
Schmelzpunktsdepression mikronisierter, bzw. amorphisierter Proben. Unterschiede in den DTA Kurven	Digoxin mikronisiert Digoxin gesprüht	Florence, Salole (1976) Nürnberg (1970, 1976) Chiou, Kyle (1979)
Keine Korrelation zwischen spezifischer Oberfläche und Auflösungsgeschwindigkeit	Digoxin kristallin Digoxin mikronisiert	Florence, Salole (1976)
Keine Unterschiede im Röntgendiffraktogramm und IR-Spektrum	Digoxin kristallin	Black, Lovering (1977)
Änderung der Sättigungskonzentration in wässriger Lösung	Digoxin kristallin	Chiou, Kyle (1979)

Durch Aufstellen von 5 Arbeitshypothesen sollen zunächst die theoretisch möglichen Deutungen für diese Erscheinungen gegeben werden, um dann im weiteren Teil dieser Arbeit zu überprüfen, ob sich eine dieser Hypothesen nachweisen läßt.

A r b e i t s h y p o t h e s e n :

1) Polymorphe Kristallmodifikation

Unterschiede im Schmelzverhalten und Abweichungen in den DTA-Kurven können in der Regel als Beweise für das Vorliegen verschiedener Modifikationen eines Wirkstoffes angesehen werden (117). Während für Digoxin nach diesen Methoden Abweichungen gefunden werden, zeigen die erwähnten Untersuchungen von BLACK und LOVERING (112) aber keine Änderungen im Röntgendiffraktogramm und im IR-Spektrum. Verschiedene Modifikationen einer Substanz ergeben jedoch differierende Beugungsbilder (118) und lassen sich so voneinander unterscheiden, es sei denn, der Wirkstoff liegt als Gemisch mehrerer Modifikationen vor. Diese Kombination verschiedener Kristallmodifikationen ergibt identische Diffraktogramme - nur die Intensitäten der einzelnen Beugungspeaks variieren zueinander -. Somit läßt sich mit den genannten Untersuchungen eine Übereinstimmung insofern ableiten, daß trotz identischer Beugungsmuster verschiedene Formen nebeneinander vorliegen können.

2) Kristall-Defekte

Theoretisch ist die Ausbildung von insgesamt vierzehn Gitterklassen, den sog. Bravis-Gittern (119) möglich. Tatsächlich findet man ideale, d.h. streng mathematisch aufgebaute Gitter nicht, so daß die beschriebenen Phänomene auch durch das Vorhandensein von Störstellen im Digoxin-Kristall erklärt werden können. Solche Defekte treten z.B. in Form von Schraubversetzungen (120) auf.

SCHWARZMAN (121) erklärte so die Unterschiede im Auflöse- und Schmelzverhalten von Aspirin[®]. Dadurch wurde die zeitweise diskutierte Existenz von sechs Kristallmodifikationen der Acetylsalicylsäure widerlegt (122).

3) Solvate

Das Vorliegen von Solvaten oder Hydraten kann das unterschiedliche Lösungsverhalten eines Wirkstoffes zur Folge haben. Solche Möglichkeiten sind für zahlreiche in der Literatur beschriebene Substanzen, wie z.B. Prednisolon (123) oder Griesofulvin (124) bekannt. Zur Unterscheidung von Produkten der Gruppe 1 bezeichnet man diese Erscheinung als Pseudopolymorphie. Da vom Digitoxin bekannt ist, daß dessen Kristalle ein halbes bzw. ein Mol Wasser oder Ethanol einzulagern vermögen, könnte man die physikalischen Unterschiede beim Digoxin auf das Vorhandensein von Solvaten oder Hydraten zurückführen.

4) Verunreinigungen

Da, wie bereits erwähnt, handelsübliches Digoxin stets mit Begleitglykosiden verunreinigt ist, könnte auch dieser Faktor ein Grund für die Schmelzpunkts- und Löslichkeitsunterschiede sein. KÜSSNER et al. hatten festgestellt, daß die Lösungseigenschaften des Digitoxins entscheidend vom Gehalt an Gitoxin abhängig sind (125).

5) Kombination aller Punkte

Ebenso besteht die Möglichkeit, daß die physikalischen Unterschiede durch Kombination der Punkte 1 - 4 zu erklären sind.

Eine Überprüfung der aufgestellten 5 Hypothesen soll durch eingehende Untersuchung der physikalisch-chemischen Eigenschaften von kristallinem, mikronisiertem (teilkristallinem) und amorphem Digoxin erfolgen.

Zur Charakterisierung des physikalisch-chemischen Zustandes sind in der Literatur (185,186) eine Reihe von Methoden beschrieben, die auch von mir bei der Anfertigung der vorliegenden Arbeit benutzt wurden. Dazu gehören:

- 1) Thermoanalytische Verfahren, wie die Polarisationsheizmikroskopie, die Differentialthermoanalyse (DTA) und die Thermogravimetrie (TG) zur Feststellung von Kristallmodifikationen oder amorpher Phasen;
- 2) die Röntgendiffraktometrie zur Analyse von Wirkstoffkristallen bzw. zum Nachweis des sog. "röntgenamorphen" Feststoffcharakters;
- 3) mikroskopische Methoden wie die Untersuchung im polarisierten Licht und die Rasterelektronenmikroskopie (REM);
- 4) spektroskopische Methoden, wie die IR-Spektroskopie;
- 5) Untersuchungen der Wirkstoffliberation bzw. Lösungsgeschwindigkeit.

2.4 Herstellung und Beschreibung der untersuchten Digoxin-Proben

2.4.1 Kristallines Ausgangsmaterial

Verwendet wurde ein von der Firma E. Merck, Darmstadt, unter der Artikel-Nummer 3047 vertriebenes Digoxin. Die Substanz entsprach in allen Punkten den Anforderungen des Europäischen Arzneibuches.

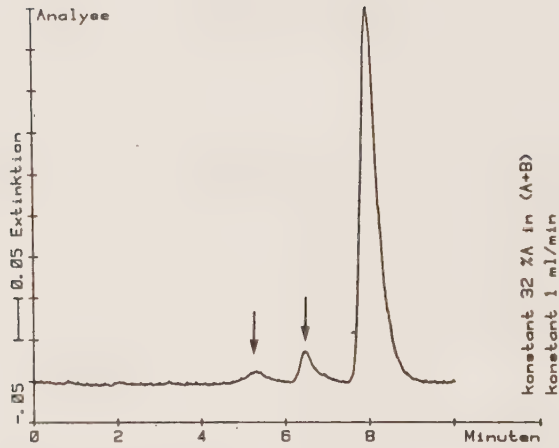
Dünnschichtchromatographische Untersuchungen (DC) zeigen bei einigen, der von mir verwendeten Digoxin-Chargen, die Anwesenheit eines Nebenflecks. Diese Verunreinigung kann durch Anwendung der Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) - chromatographische Bedingungen siehe Tabelle 5 - als Abbauprodukte (Digoxigenin zusammen mit Digoxigenin-bisdigitoxosid) des Digoxins identifiziert werden.

Tabelle 5 Chromatographische Bedingungen

GERÄT	Spektralphotometer: Uvicon 720 LC Wellenlänge: 220 nm Pumpen: Altex, Modell 110 A Durchflußrate: 1 ml/min. Mischer: Altex Gradienten-Mischer
	Drucklose Einspritzung über Rheodyne-Ventil Einspritzmenge: 20 µl
SÄULE	Hibar Li Chrosorb RP 8, 250 mm x 4 mm i.D., 10 µm
FLIESS- MITTEL	A: Acetonitril 32 Prozent B: Wasser 68 Prozent (126)

In Abbildung 6 sind die HPLC-Chromatogramme der kristallinen Ausgangssubstanz (a), der Ph. Eur.-Referenzsubstanz (b) sowie der Trennung Digoxigenin/Digoxin (c) wiedergegeben.

Aus den Diagrammen können auch die Retentionszeiten, sowie die durch Peak-Integration ermittelten prozentualen Flächenverhältnisse entnommen werden.



H P L C - Analyse
DIGOXIN KRIST. MERCK

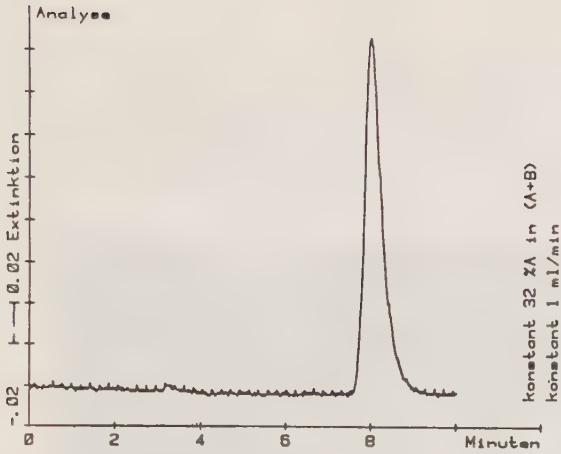
Ret. Zeit Min: Sek	Fläche	Flächen-%
5: 18	7.67998E-03	3.23
6: 29	.0150467	6.33
7: 57	.214673	90.42

Zeit Min: Sek	Fließmittel		nm
	ml/min	% in (A+B)	
0: 00	1.0 iso.	32.0 iso.	220.0

Programmende nach 10: 00 Minuten

Abb. 5 a

Chromatogramm der kristallinen Ausgangssubstanz



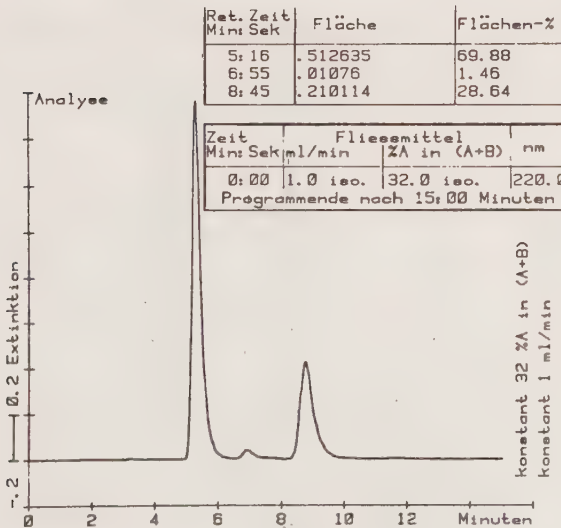
H P L C - Analyse
DIGOXIN PH. EUR. REFERENZSUBST.

Ret. Zeit MiniSek	Fläche	Flächen-%
7:59	.0812202	100

Zeit MiniSek	Fließmittel ml/min	λ in (A+B)	nm
0:00	1.0 iso.	32.0 iso.	220.0
Programmende nach 10:00 Minuten			

Abb. 5 b

Chromatogramm
der Ph.Eur.-
Referenzsubstanz



Ret. Zeit MiniSek	Fläche	Flächen-%
5:16	.512635	69.88
6:55	.01076	1.46
8:45	.210114	28.64

Zeit MiniSek	Fließmittel ml/min	λ in (A+B)	nm
0:00	1.0 iso.	32.0 iso.	220.0
Programmende nach 15:00 Minuten			

H P L C - Analyse
TRENNUNG DIGOXIGENIN/DIGOXIN

Abb. 5 c

Chromatogramm
von
Digoxigenin/Digoxin

Die polarisationsmikroskopische Aufnahme, Abbildung 6, zeigt den anisotropen Wirkstoff; ebenso sind im Röntgendiffraktogramm, Abbildung 7, die für kristalline Körper charakteristischen Beugungspeaks zu erkennen, wobei die Probe einen Kristallinitäts-Index von 0,97 aufweist.



20 μm $\longleftrightarrow$

Abb. 6 Polarisationsmikroskopische Aufnahme von Digoxin kristallin

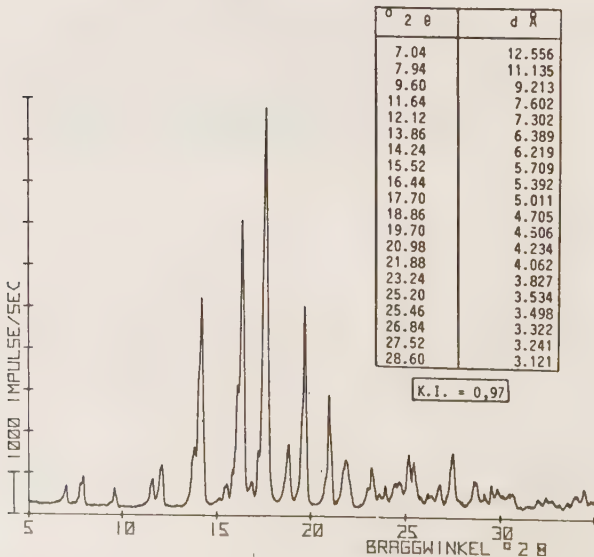
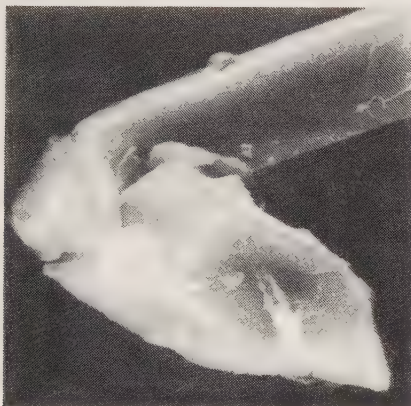


Abb. 7 Röntgendiffraktogramm von Digoxin kristallin

Bei der rasterelektronenmikroskopischen Betrachtung sieht man die typische tafelförmige Kristallform (triklines Kristallgitter (105)) des Glykosids (Abbildung 8).



4 µm —

Abb. 8 REM-Aufnahme von Digoxin kristallin,
Vergrößerung 2500x

Untersuchungen des Schmelzverhaltens der Substanz mittels der DTA zeigen das Vorhandensein eines großen Schmelz- und anschließenden Zersetzungsintervalls. Wie aus Abbildung 9 hervorgeht, beginnt der Schmelzprozeß bei 443 K (170 °C) und endet bei 533 K (260 °C) mit der Zersetzung des Wirkstoffes. Es erwies sich als notwendig - bei allen untersuchten Proben - unter N₂-Begasung (25 ml/min.) aufzuheizen, da andernfalls eine bei tieferen Temperaturen einsetzende exotherme Zersetzung eintritt. Der Schmelzpeak des Digoxins ist gemäß Tabelle 6 von der Aufheizgeschwindigkeit abhängig.



Abb. 9 DTA-Kurve von Digoxin kristallin
(5 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

Tabelle 6 Schmelzbereich und Schmelzpunkt von Digoxin
in Abhängigkeit von der Heizrate

Heizrate	Schmelzbereich	Schmelzpunkt
5 K/Min	443 - 533 K	497,4 K
	170 - 260 °C	224,4 °C
20 K/Min	443 - 553 K	510 K
	170 - 280 °C	237 °C

Ein analoges Verhalten wurde von KUHNERT-BRANDSTETTER (127) für Prednisolon beschrieben.

Gegenüber der Referenzsubstanz des Europäischen Arzneibuchs, die bei einer Aufheizgeschwindigkeit von 5 K/min. einen Schmelzpunkt von 501,8 K (228,2 °C) ergab, weisen die untersuchten Digoxin-Chargen eine geringe Schmelzpunktsdepression auf, welche auf die erwähnten Digoxin-Abbauprodukte zurückzuführen ist. Substanzen, die durch Umkristallisation aus Methanol oder Chloroform gewonnen werden, unterscheiden sich bei der DTA-Untersuchung von dem kristallinen Handelsprodukt. Wie aus Abbildung 10 hervorgeht, ist der beim Ausgangsmaterial nur als Schulter erkennbare Peak bei 533 K (260 °C) in der DTA-Kurve der umkristallisierten Substanz deutlich ausgeprägt.

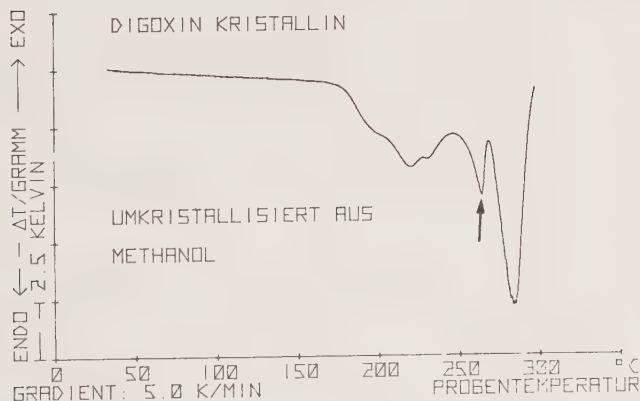


Abb. 10 DTA-Kurve von Digoxin kristallin,
umkristallisiert aus Methanol
(5 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

Versuche, ein definiertes Hydrat oder Solvat zu bilden, führten im Fall der untersuchten Proben nicht zum Erfolg, d.h. sie lassen sich mit den in der Literatur beschriebenen Methoden nicht nachweisen.

Die Sättigungskonzentration der einzelnen Digoxin-Chargen (100 mg/100 ml Aqua dest.) beträgt in Übereinstimmung mit den Literaturwerten 3 - 4 mg/100 ml (310 K, 37 °C).

2.4.1.1 Kritische Betrachtungen zur Röntgenbeugungsanalyse

Es wurde festgestellt, daß durch wiederholte röntgendiffraktometrische Untersuchungen kristalliner Digoxin-Proben der Wirkstoff einen ausgeprägten Textur-Effekt aufweist, d.h. die Intensitätswerte erscheinen für einige Netzebenen zu hoch, für andere wieder zu niedrig. Daher ist es nicht ohne besondere Probenvorbehandlung möglich, einen Intensitätsvergleich charakteristischer Peaks an unterschiedlichen kristallinen Chargen vorzunehmen. Die Beachtung dieses Umstandes ist zur Klärung der in der Arbeitshypothese 1 (Polymorphie) aufgeworfenen Fragen notwendig.

Nach ALEXANDER und KLUG (128) beeinflussen 4 Faktoren die mittels eines Röntgendiffraktometers ermittelten Intensitätswerte einer Probe:

- A) Kristallinität, Struktur und Größe der Partikel
- B) Probenschichtdicke
- C) Textur-Effekt, d.h. bevorzugte Orientierung
- D) Oberflächenbeschaffenheit, d.h. Planheit der Probeneoberfläche

Aus diesen Gründen kommt bei der quantitativen röntgendiffraktometrischen Untersuchung der Probenvorbereitung eine entscheidende Bedeutung zu. Die Zahl der Kristall-Flächen, an denen die Röntgenstrahlen gebeugt werden, muß genügend groß

sein, um reproduzierbare Intensitätswerte zu erhalten, die bevorzugte Orientierung der Kristalle soll auf ein Minimum begrenzt werden. Die Bedingung 1 ist relativ leicht zu erfüllen, indem man die Probe pulverisiert. Da hierdurch genügend Kristallflächen zur Verfügung stehen, mit denen der Röntgenstrahl interferieren kann, wird die Reproduzierbarkeit der Messung verbessert. Gleichung 1 gibt einen Ausdruck zur Berechnung der mittleren relativen Abweichung der registrierten Intensitätswerte (U_m) wieder:

$$U_m = 0,789 \left(\frac{q \cdot \mu \sum v_i f_i}{p \cdot A} \right)^{1/2} \quad (\text{Gl. 1})$$

$q = 1 - p$

p : Kristall-Fraktion, die bevorzugt orientiert ist

q : Kristall-Fraktion, die nicht bevorzugt orientiert ist

μ : linearer Absorptions-Koeffizient

v_i : Volumen der Probe

f_i : Volumen der Einzelkristalle

A : Querschnittsfläche des Röntgenstrahles am Kreuzungspunkt mit dem Probenträger

Durchdringt ein schmaler monochromatischer Röntgenstrahl der Intensität I_0 eine homogene Platte der Dicke t (cm), die senkrecht zum Strahl steht, so ist die Intensität I des austretenden Strahles gegeben durch die Beziehung:

$$I = I_0 e^{(-\mu t)} \quad (\text{Gl. 2})$$

μ wird als linearer Absorptionskoeffizient bezeichnet und hat die Dimension cm^{-1} .

Da die Schwächung der Strahlungsintensität von der Menge des durchstrahlten Materials abhängt, wird die Größe μ vielfach durch die Dichte des Materials dividiert, wobei der Massenschwächungskoeffizient μ/ρ erhalten wird, der eine vom chemischen und physikalischen Zustand des Absorbers unabhängige Größe darstellt (130).

Aus Gleichung 1 kann man entnehmen, daß die Reproduzierbarkeit der ermittelten Intensitätswerte nicht nur von der Feinheit des kristallinen Pulvers beeinflusst wird, sondern auch eine Funktion der Kristallsymmetrie und der geometrischen Anordnung (Faktoren q und p) ist. Abbildung 11 verdeutlicht den Zusammenhang zwischen der Abweichung der Strahlungsintensitäten und der Feinheit der Probe in Abhängigkeit verschiedener linearer Absorptionskoeffizienten μ .

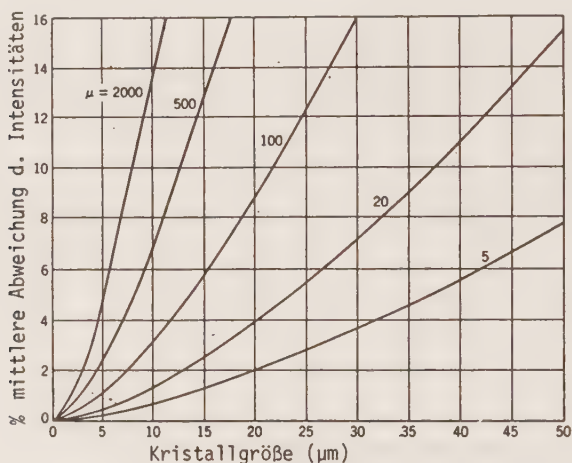


Abb. 11 Zusammenhang zwischen der prozentualen Abweichung der Strahlungsintensitäten und der Feinheit der Probe (128)

Diese Abbildung verdeutlicht, daß die Korngröße der Kristallite kleiner als ca. 5 µm sein muß, um eine Abweichung der registrierten Intensitätswerte von kleiner 1 Prozent zu erhalten. Bei Verwendung eines drehbaren Probenträgers wird ebenfalls die effektive Zahl der Kristallite erhöht, die mit dem Röntgenstrahl interferieren können (131). Dieser spezielle Probenhalter ermöglicht es auch, die bevorzugte Orientierung der Substanz auf ein Minimum zu begrenzen.

Einen weiteren Einfluß auf die Höhe der ermittelten Intensitätswerte hat die Probenschichtdicke t . Will man maximale Intensitäten registrieren, muß man für die notwendige Dicke t der Probe sorgen. Gleichung 3 gibt die Parameter an, die zur Berechnung dieser Probenschichtdicke t notwendig sind:

$$t \geq \frac{3,2\rho}{\mu \cdot \rho'} \cdot \sin \theta \quad (\text{Gl. 3})$$

wobei μ : linearer Absorptionskoeffizient
 ρ : Dichte der Probe
 ρ' : Dichte der Füllung
 θ : Beugungswinkel

Ein Textur-Effekt der Probe kann durch die im folgenden aufgeführten Verfahren vermindert werden:

- 1) Das Pulver wird mit einer Lacklösung versetzt, die sich über die Partikeloberfläche breitet und so eine Aggregation der Kristallite verhindert.
- 2) Feingepulvertes Glas oder eine zweite kristalline Substanz, z.B. MgO , wird unter die zu untersuchende Probe gemischt.

Verfahren 1 ist wegen der Gefahr einer partiellen Anlösung des Digoxins abzulehnen.

Verfahren 2 besitzt den Nachteil, daß zwei Substanzen mit unterschiedlichem Massenschwächungskoeffizient gemischt werden und deshalb der Effekt der Mikroabsorption berücksichtigt werden muß (132).

Plättchenförmige Präparate, die zu Textur-Effekten neigen, dürfen nicht fest in den Probenbehälter gepresst werden, da sich bevorzugte Orientierungsmöglichkeiten der Kristalle ergeben, wodurch die Intensitätswerte für einige Netzebenen zu hoch, für andere wieder zu niedrig erscheinen (130).

Bei dem von mir benutzten Röntgendiffraktometer besteht nicht die Möglichkeit, den Probenträger während der Messung zu drehen, um die Effekte, die durch eine bevorzugte Orientierung der Kristalle hervorgerufen werden, auf ein Minimum zu reduzieren. Auch würde eine Verringerung der Partikelgrösse nicht sinnvoll sein, da, wie bereits erwähnt, FLORENCE und SALOLE (107) eine Änderung des physikalischen Zustandes des Wirkstoffs durch die Mikronisierung nachgewiesen hatten.

Mit Hilfe dieser Untersuchungsmethode ist es somit nicht möglich, die aufgestellten Fragen der Arbeitshypothese 1 zufriedenstellend zu klären.

2.4.2 Mikronisierte Digoxin-Proben

2.4.2.1 Herstellung

Mit einer Retsch-Mörser-Mühle wurden jeweils 1000 mg kristallines Digoxin (Merck-Artikelnummer 3047) mikronisiert. Die Versuchsbedingungen sind in der folgenden Aufstellung zusammengefaßt:

Pistill-Umdrehung : 40 SkT

Mörser-Umdrehung : 55 SkT

Mörser-Volumen 8 ml, Achat-Garnitur

Nach jeweils 10, 20, 30, 40, 50 und 60 Minuten wurden Substanzproben entnommen.

Temperatur: 293 K (20 °C)

$d_{\max}$ Ausgangssubstanz: 100 μm

$d_{\max}$ nach 60 Minuten : 44 μm (neben vielen 5 μm -Teilchen)

2.4.2.2 Röntgendiffraktometrische Untersuchungen

Eine Abnahme der Kristallinität des eingesetzten Ausgangsmaterials wird röntgendiffraktometrisch bestimmt. Dabei postuliert man ein Zweiphasenmodell, wonach in der mikronisierten Substanz nur nebeneinander geordnete kristalline und ungeordnete nicht-kristallin - amorphe - Bereiche auftreten. Der kristalline bzw. amorphe Anteil kann nach zwei Methoden gemessen werden:

- 1) Nach der von KRIMM und TOBOLSKY (133) angewandten Technik wird der amorphe Anteil aus dem Verhältnis der in einem bestimmten Winkelbereich integrierten kohärenten Streuintensität einer mikronisierten Probe mit der entsprechenden Streuintensität eines "völlig amorphen" Produktes bestimmt.
- 2) Nach der von BLACK und LOVERING (231) entwickelten Methode wird der Kristallinitätsindex (K.I.) aus der Peakhöhe des Impulses bei $2\theta = 16,4^\circ$ (entspricht $d = 5,4 \text{ \AA}$, $\text{CuK}_{\alpha 1/2}$: $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$) bestimmt.

Zur K.I.-Wertbestimmung wird der Intensitätswert des bei $2\theta = 16,4^\circ$ auftretenden Reflexes um die Streuintensität des Untergrundes (U) und des amorphen Anteiles vermindert.

Abbildung 12 zeigt das Beugungsbild einer mikronisierten Digoxin-Probe (Mahldauer: 40 min.). Das Röntgendiffraktogramm entsteht durch Überlagerung zweier spezifischer Anteile über einer Untergrundstreuung (U):

*Die Autoren benutzen die Peakhöhe bei $2\theta = 7,7^\circ$ (Mo-Strahlung, $d = 5,4 \text{ \AA}$).

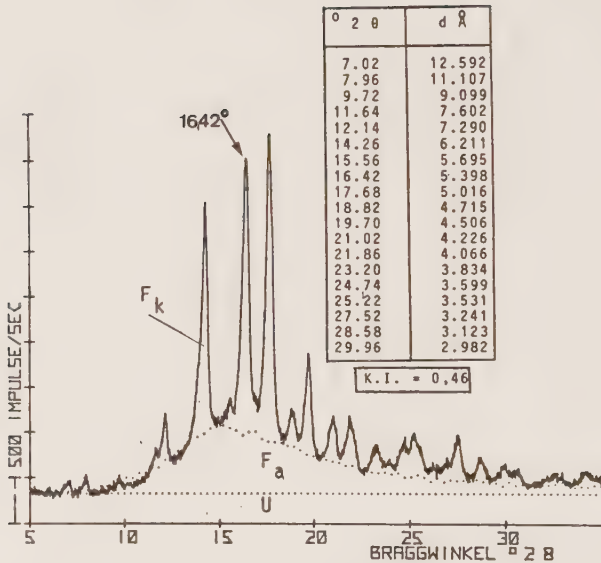


Abb. 12 Röntgendiffraktogramm einer teilkristallinen Digoxin-Probe (Mahldauer: 40 Minuten)

- A) Die Summe des Streuanteils der Kristallite mit den einzelnen Interferenzen (F_k). Die statistischen Störungen des Gitters bewirken eine starke "Aufräuhung" der höher indizierten Netzebenen, so daß deren Interferenzen verwaschen erscheinen.
- B) Der Streuanteil des amorphen Bereiches (F_a). Die Streuelemente besitzen eine Nahordnung ähnlich der einer Flüssigkeit. Das Spektrum zeigt ein breites, verwaschenes Maximum ("amorphes Halo") bei einem bestimmten Winkel, der etwa dem häufigsten, mittleren Abstand $\bar{d}$ im Amorphen zugeordnet ist.

Der Kristallinitätsindex wird folgendermaßen bestimmt:

$$K.I. = \frac{F_k}{F_a + F_k} = \frac{\int_{5^0}^{35^0} I_k(2\theta) d 2\theta}{\int_{5^0}^{35^0} I(2\theta) d 2\theta} \quad (Gl. 4)$$

$$\int_{5^0}^{35^0} I_k(2\theta) d 2\theta = \text{Streuanteil der Kristalle (Fläche } F_k)$$

$$\int_{5^0}^{35^0} I(2\theta) d 2\theta = \text{integrierte Intensitätswerte des amorphen plus kristallinen Anteiles (Fläche } F_a + F_k)$$

Die Kurve, welche F_k von F_a trennt, ist nicht völlig ohne Willkür zu ziehen, da das Maximum der ungeordneten Phase nicht unbedingt durch das Minimum der Reflexe bei $2\theta = 15,5^0$ und $16,4^0$ festgelegt ist.

Um den dadurch auftretenden methodischen Fehler so gering wie möglich zu halten, wurde in der vorliegenden Arbeit der Kristallinitätsindex von Digoxin-Proben unter Verwendung eines neuentwickelten Rechner-Programmes ermittelt. Dazu werden zunächst die Intensitätswerte einer "rein amorphen" Probe* ermittelt und im Rechner** gespeichert.

*Herstellung durch Sprühtrocknung einer Digoxin-Lösung nach (72). Angemerkt sei die Tatsache, daß es oft erhebliche Schwierigkeiten bereitet, die amorphe Form eines Wirkstoffes in Folge der Instabilität solcher Substanzen zu erhalten.

Nachdem die Streuintensität des mikronisierten Digoxins aufgezeichnet ist, paßt der Rechner die gespeicherte amorphe Kurve möglichst genau den Minima der Reflexe der teilkristallinen Probe an. Nach Korrektur von Luftstreuung und Probenträgereffekten (Untergrundabtrennung) werden die erhaltenen Flächen integriert und gemäß Gleichung 4 in Beziehung gesetzt.

Der prozentuale kristalline Anteil wird aus einer vorher aufgestellten Eichkurve entnommen (Abbildung 13).

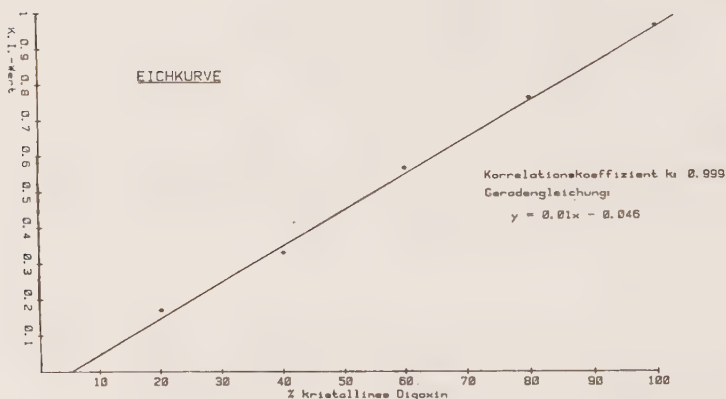


Abb. 13 Eichkurve zur röntgendiffraktometrischen K.I.-Bestimmung

Die Werte dieser Eichkurve sind durch röntgendiffraktometrische Untersuchungen von physikalischen Mischungen "rein kristallinen" und "rein amorphen" Digoxins ermittelt und unter Verwendung des Rechner-Programmes ausgewertet worden.

In der Abbildung 14 sind die nach Methode 1 und 2 ermittelten Kristallinitätswerte der verschieden lang mikronisierten Digoxin-Proben wiedergegeben.

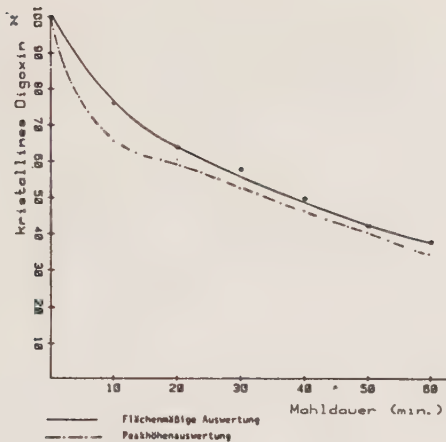


Abb. 14

Abnahme der Kristallinität
gemahlener Digoxin-Proben
in Abhängigkeit von der
Mahldauer

Beide Meßverfahren liefern annähernd identische Werte, wobei sich jedoch die flächenbezogene Auswertung als wesentlich vorteilhafter erwies. Bei dieser Methode hat ein Textureffekt der Probe - anders als bei der Peakhöhen-Auswertung - keinen Einfluß auf die K.I.-Bestimmung.

Weiter kann man aus Abbildung 14 ersehen, daß die Proben durch Mahlung in einer Retsch-Mühle unter den gewählten Bedingungen nicht in den "völlig röntgenamorphen" Zustand zu überführen sind, sondern einen Grenzwert von ca. 30 Prozent an kristallinem Anteil enthalten.

2.4.2.2.1 Bemerkungen zur "Zweiphasenstruktur" mikronisierter Digoxin-Proben

Den beschriebenen Ergebnissen liegt, wie bereits erwähnt, die Interpretation des Röntgeninterferenzbildes von mikronisiertem Digoxin als das einer Zweiphasenstruktur aus dreidimensional geordneten kristallinen und strukturell merklich davon ver-

schiedenen, nicht geordneten Bereichen zugrunde.

Diese vereinfachende Annahme muß indessen die realen Verhältnisse nicht unbedingt exakt wiedergeben:

Durch röntgendiffraktometrische Untersuchungen an hochpolymeren Verbindungen (134) konnte nämlich gezeigt werden, daß Gitterstörungen nicht nur die Integralintensitäten der beobachteten Reflexe reduzieren, sondern auch eine diffuse Streuung verursacht wird, welche fälschlicherweise einer amorphen Phase zugeschrieben werden kann. HENDUS und SCHNELL (135) charakterisierten diese Gitterstörungen als solche erster und zweiter Art. Gitterstörungen erster Art sind dabei durch thermische Gitterschwingungen und durch statistisch verteilte Fehlstellen, Gitterstörungen zweiter Art durch die flüssigkeitsstatistische oder parakristalline Struktur des Gitters bedingt. Beide Arten von Gitterstörungen können nach Ansicht der genannten Autoren auch ohne daß im Untersuchungsmaterial überhaupt eine amorphe Phase vorliegt, im "normalen" Weitwinkel-Röntgendiffraktogramm einen "amorphen Halo" verursachen. Die üblichen röntgendiffraktometrischen Methoden der Kristallinitätsbestimmung würden, wenn außer den Gitterstörungen wirklich noch eine amorphe Phase im Hochpolymeren vorläge, nur einen unteren Grenzwert der Kristallinität angeben, weil der von den Gitterstörungen herrührende diffuse Streuanteil in Wirklichkeit der kristallinen Intensität zugeordnet werden muß (135).

In Anbetracht der Möglichkeit, daß auch bei teilkristallinen Digoxin-Proben ein Zweiphasenmodell die wirklichen Verhältnisse nicht exakt beschreiben kann, sollte mit den nachfolgend beschriebenen infrarotspektroskopischen Untersuchungen (IR) geklärt werden, ob die nach dieser Methode ermittelten K.I.-Werte mit den röntgendiffraktometrisch ermittelten Angaben korrelierbar sind. Die Möglichkeit, die Kristallinität einer teilkristallinen Probe mittels der IR-Spektroskopie zu bestimmen, hatten BORKA et al. für Chloramphenicolpalmitat und BLACK und LOVERING für Digoxin bewiesen (110,112).

2.4.2.3 IR-Untersuchungen

Abbildung 15 zeigt die IR-Spektren* von kristallinem (A) und amorphem (B) Digoxin.

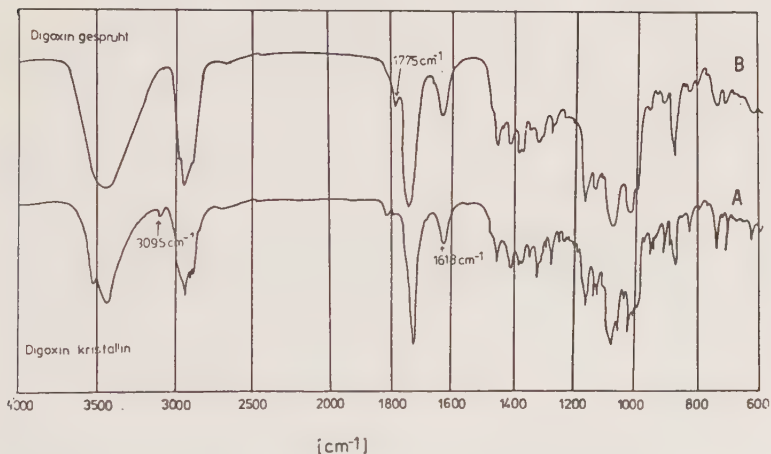


Abb. 15 IR-Spektrum von kristallinem (A) und amorphem (B) Digoxin

Die durch die funktionellen Molekülgruppen bedingten Banden (136) sind in beiden Spektren deutlich ausgeprägt und in der Tabelle 7 zusammengefaßt.

*Für die Durchführung der Messung danke ich Herrn Dr. H. HAHN, Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Universität Erlangen-Nürnberg.

Tabelle 7 Charakteristische Digoxin-IR-Banden

Wellenzahl (cm^{-1})	Funktionelle Gruppe
1650	vinylloge Doppelbindung
1750	Lacton-Ring
2800	Wasserstoff-Brücken
3500	sorptiv gebundenes Wasser
3600	Hydroxylgruppe

Das kristalline Ausgangsmaterial zeigt Banden bei 1800 und 3095 cm^{-1} , die beim amorphen Produkt fehlen. Demgegenüber findet man beim amorphen Digoxin eine Bande bei 1775 cm^{-1} , die beim kristallinen Produkt nicht vorhanden ist. Diese diskreten Absorptionsbanden entsprechen den energetisch verschiedenen Zuständen der kristallinen und amorphen Bereiche.

Die kräftig ausgeprägte Bande bei 3500 cm^{-1} , die die im Spektrum vorhandene OH-Bande bei 3600 cm^{-1} im Spektrum B verdeckt, weist auf größere Mengen an sorptiv gebundenem Wasser bei der amorphen Substanz hin.

Einen ausgeprägten Zusammenhang zwischen Amorphität und Sorptionsverhalten bzw. Hygroskopizität, der für Digoxin bereits durch MÜLLER et al. beschrieben ist (167), konnte von anderen Autoren auch für diverse Cellulose-Produkte (123,137), sowie Cephalotin-Natrium bewiesen werden (138).

Bei teilkristallinen Digoxin-Mahlprodukten nimmt die Peakhöhe in Abhängigkeit von der Mahldauer bei 3095 cm^{-1} ab, bei 1775 cm^{-1} jedoch zu.

Um den kristallinen Anteil in mikronisiertem Digoxin nach dieser Methode zu bestimmen, zieht man zuerst eine Basislinie zwischen den Minima bei 3050 und 3150 cm^{-1} , sowie zwischen

1550 und 1900 cm^{-1} . Das Verhältnis der Peakhöhen bei 3095 und 1618 cm^{-1} bzw. 1775 und 1618 cm^{-1} wird zur K.I.-Bestimmung herangezogen. Untersucht man die gemahlten Proben, so ergibt sich eine gute Korrelierbarkeit zwischen den röntgendiffraktometrisch und IR-spektroskopisch ermittelten Kristallinitätswerten. Als Beispiel sind die berechneten Werte für das 60-Minuten Mahlprodukt aufgeführt.

Produkt	IR $P_{3095/1618}$	RD
Digoxin kristallin, 60 Minuten Retsch-Mühle	42 % kristallin	37 % kristallin

2.4.2.4 DTA- und TG-Untersuchungen

Die DTA- und TG-Kurven (Abbildung 16a und 16b) der unterschiedlich lang gemahlten Digoxin-Proben weisen deutliche Differenzen zu der kristallinen Ausgangssubstanz auf.

Schon eine zehnminütige Mahlung mit der Retsch-Mühle erniedrigt die Schmelz- bzw. Zersetzungstemperatur um mehr als 50 K.

Auffällig ist, daß sich das Schmelzintervall bei mikronisiertem Digoxin verkleinert, d.h. im Vergleich zum kristallinen Handelsprodukt ein "schärferer" Schmelzpunkt vorliegt.

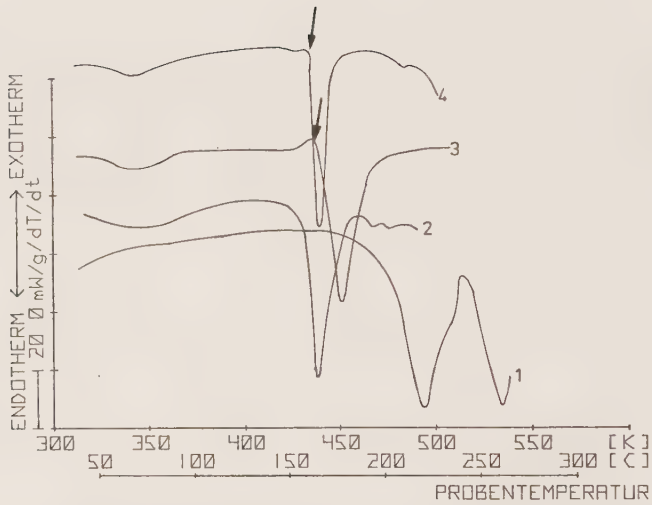


Abb. 16a DTA-Kurven verschiedener Digoxin-Proben
kristalline Ausgangssubstanz (1), 10 Minuten gemahlen (2),
60 Minuten gemahlen (3), Probe (3) 4 Wochen bei Raumtempe-
ratur gelagert (4).

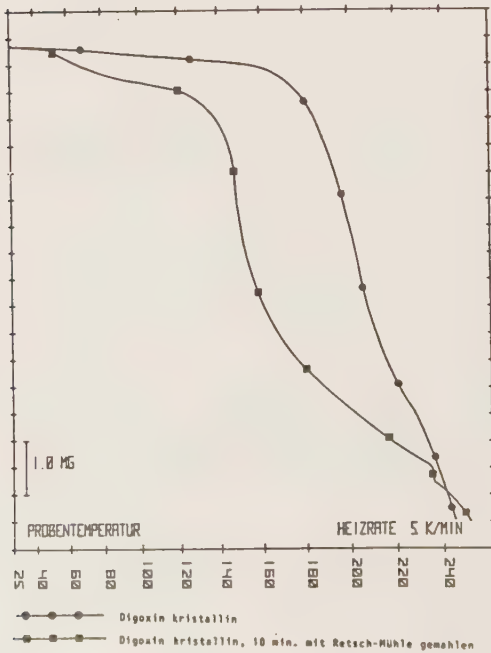


Abb. 16b

TG-Kurven verschiedener
Digoxin-Proben

Diese Tatsache spricht gegen Hypothese 4, da mögliche Verunreinigungen auch in der mikronisierten Substanz im gleichen Verhältnis wie beim Ausgangsmaterial vorliegen müßten. Eine längere mechanische Energiezufuhr, die im allgemeinen mit einer Beeinflussung des Ordnungszustandes der Kristalle verbunden ist, führt zu einem exothermen Signal bei 440 K (167 °C) in den DTA-Kurven. Der Schmelzpunkt dieser Proben verschiebt sich nach höheren Temperaturwerten, außerdem tritt ein zusätzlicher endothermer Peak bei 328 K (55 °C) auf. Eine Interpretation dieser beiden Peaks kann erst nach dem Vorliegen weiterer physikalischer Daten gegeben werden (s. 2.5).

Tabelle 8 faßt die erhaltenen Meßdaten zusammen.

Tabelle 8 DTA-Kennzahlen mikronisierter Digoxin-Proben;
Heizrate: 5 K/min.

Mahldauer (min.)	Schmelzpeak	Integrations- bereich	Reaktionswärme pro g Digoxin J/g
0	497,4 K (224,4 °C)	443 - 553 K (170 - 260 °C)	104
10	439,9 K (166,9 °C)	413 - 473 K (140 - 200 °C)	66,9
20	440,5 K (167,5 °C)	413 - 473 K (140 - 200 °C)	91,18
60	450,8 K (177,8 °C)	443 - 483 K (170 - 210 °C)	134,7
60 *	444 K (171 °C)	413 - 473 K (140 - 200 °C)	110

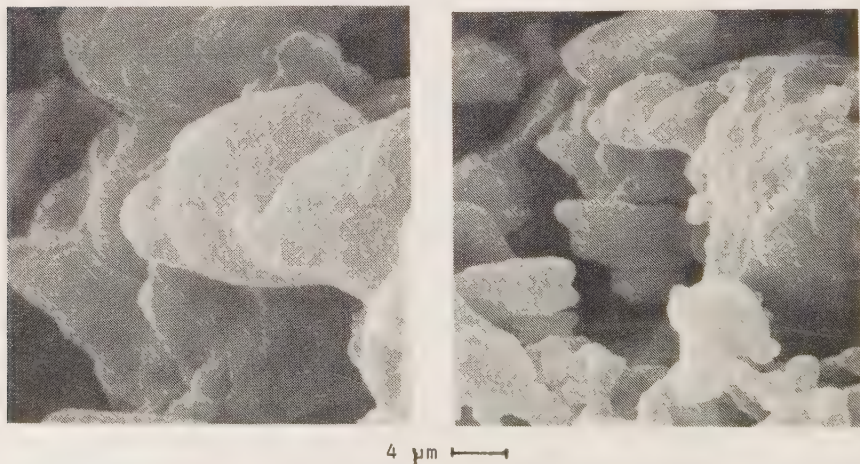
* 4 Wochen nach Herstellung

Aus dieser Tabelle geht auch die physikalische Instabilität solcher Produkte hervor. Die DTA-Kurven von - bei Raumtemperatur gelagerten - Produkten unterscheiden sich merklich von den unmittelbar nach der Herstellung aufgezeichneten: Die Höhe des exothermen Peaks und des Schmelzpunktes änderten sich zeitabhängig nach niedrigeren Werten (Abb. 16a). Angemerkt sei auch die Beobachtung, daß röntgendiffraktometrische Untersuchungen keine Unterschiede zwischen gelagerten und Ausgangssubstanzen zeigen, d.h. die DTA-Untersuchungen weitergehendere Aussagen erlauben.

2.4.2.5 REM-Untersuchungen

Abbildung 17 zeigt zwei rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen einer mikronisierten Digoxin-Probe.

Abb. 17 REM-Aufnahme von gemahlenem Digoxin kristallin



a) Vergrößerung: 2500x
Mahldauer: 80 Minuten

b) Vergrößerung: 2500x
Mahldauer: 50 Minuten

Man kann deutlich erkennen, daß die Kristalloberflächen vom "amorphen" Material umhüllt sind. Dagegen ist eine Verkleinerung der Partikelgröße durch Zerstörung des Kristalls kaum nachweisbar (vgl. Abb. 8).

Da die Abnahme der Kristallinität der Proben mit zunehmender Mahldauer immer geringer wird, nimmt die Dicke der "amorphen" Schicht in Abhängigkeit von der Mahldauer zu.

Bei Annahme eines Zweiphasenmodelles liegen also die kristallinen Bereiche der Substanz "eingebettet" in der amorphen Phase vor. Diese verhält sich praktisch als Schutzschicht des Kristalls gegenüber einer mechanischen Beanspruchung durch Mörser und Pistill.

2.4.2.6 Bestimmung des Lösungsverhaltens

Einer der wichtigsten Parameter für die biopharmazeutische Relevanz eines Wirkstoffs ist dessen In-vitro-Lösungsverhalten. Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit einer Substanz hängen neben der Partikelgröße weitgehend von deren Kristallstruktur und Ordnungszustand ab. Verschiedene kristalline Zustände einer Substanz besitzen unterschiedliche freie Energien. Der energiereichste und zugleich instabilste Zustand wird bekanntlich von einem amorphen Stoff erreicht. Daher ist zu erwarten, daß sich die bisher beschriebenen Produkte in ihrem Lösungsverhalten unterscheiden.

Zur Ermittlung der Auflösungs geschwindigkeit der teilkristallinen Digoxin-Proben wurde eine in Abbildung 18 dargestellte kontinuierlich arbeitende Anordnung gewählt, die durch ein Inkubationsgefäß in Form eines 100 ml Rundkolbens mit flachem Boden gekennzeichnet ist. Als Auflösungsmedium dienten 100 ml Aqua dest. von 310 K (37 °C), um die in der Literatur beschriebene Hydrolyse des Glykosids bei Verwendung von 0,1 N HCL (USP XX) zu vermeiden. (92,93,141,142,143).

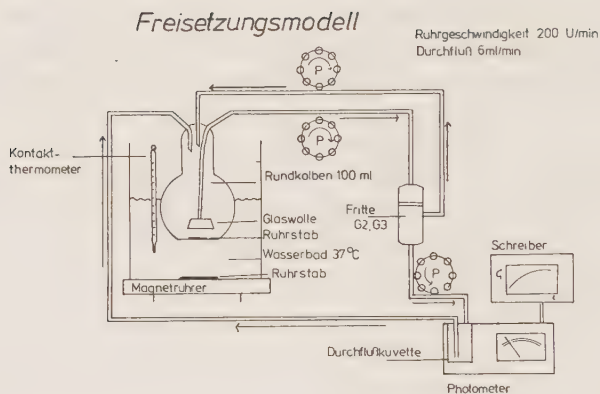


Abb. 18 Anordnung zur Ermittlung der Auflösungsgeschwindigkeit

Die wirkstoffbezogene Einwaage betrug in allen Fällen 100 mg Digoxin, für genügend Turbulenz im Inkubationskolben sorgte ein Magnetrührstab (200 U/min.). Die kontinuierliche Messung wird bei 310 K (37 °C) mit Hilfe eines Beckman Spektralphotometers, Modell 24, bei 220 nm in einer Durchfluß-Küvette mit 1 bzw. 0,1 cm Schichtdicke durchgeführt. Die zugrunde gelegte Extinktion $E_{1\text{ cm}}^{1\%}$ beträgt 244 (116), als Referenz diente Wasser.

Eine fehlerfreie spektralphotometrische Gehaltsbestimmung ist bekanntlich nur möglich, wenn eine garantiert klare Lösung zur Messung kommt und die Grundabsorption eventueller Begleitstoffe berücksichtigt wird. Daher erfolgte der Flüssigkeitstransport unter Verwendung einer Schlauchpumpe (6 ml/min.) über ein abgeschnittenes Spritzenende, das eine dichte Packung aus Glaswolle enthält zu einer zwischengeklemmten Fritte (G2, G3), in der eine weitere Abtrennung partikulärer Bestandteile möglich war. Die Vorklärung der Inkubationsflüssigkeit durch Glaswolle erwies sich als vorteilhaft, da im Gegensatz zur Verwendung von Glasfritten oder Membranfiltern keine Druckunterschiede auftraten.

Diese Druckunterschiede können ein Abplatzen der verwendeten Schläuche zur Folge haben oder Ursache für das Auftreten von Luftblasen im System sein. Sollte es trotzdem zur Blasenbildung kommen, so werden diese durch einen Ablauf in der zwischengeschalteten Fritte, der einen konstanten Flüssigkeitsspiegel gewährleistet, aus dem Kreislauf entfernt. Das überstehende Inkubationsmedium wird über den Ablauf dem Kolben und somit dem kontinuierlichen Kreislauf wieder zugeführt.

Zur Vermeidung von Meßfehlern, die - trotz der Filtrationsmaßnahmen - durch in den Strahlengang gelangende partikuläre Bestandteile auftreten können, erfolgte eine Vergleichsmessung bei einer für Digoxin unspezifischen Wellenlänge von 360 nm. Hier findet praktisch keine durch den Wirkstoff bedingte Extinktion mehr statt.

Die Korrektur der GesamtabSORption errechnet sich dabei nach folgender Gleichung:

$$E_p = E_{ges} - E_t \quad (144) \quad (Gl. 5)$$

E_p = Konsumptive Absorption

E_{ges} = GesamtabSORption

E_t = Trübungsabsorption

Die Gültigkeit des Lambert-Beer'schen Gesetzes und damit die Konstanz des Absorptionsmaximums konnte nachgewiesen werden.

Abbildung 19 beschreibt die Verhältnisse der kontinuierlichen In-vitro-Prüfung von mikronisierten Digoxin-Proben. Aus ihr geht hervor, daß mit steigenden amorphen Anteilen im Mahlprodukt unterschiedlich hohe Übersättigungswerte erreicht werden.

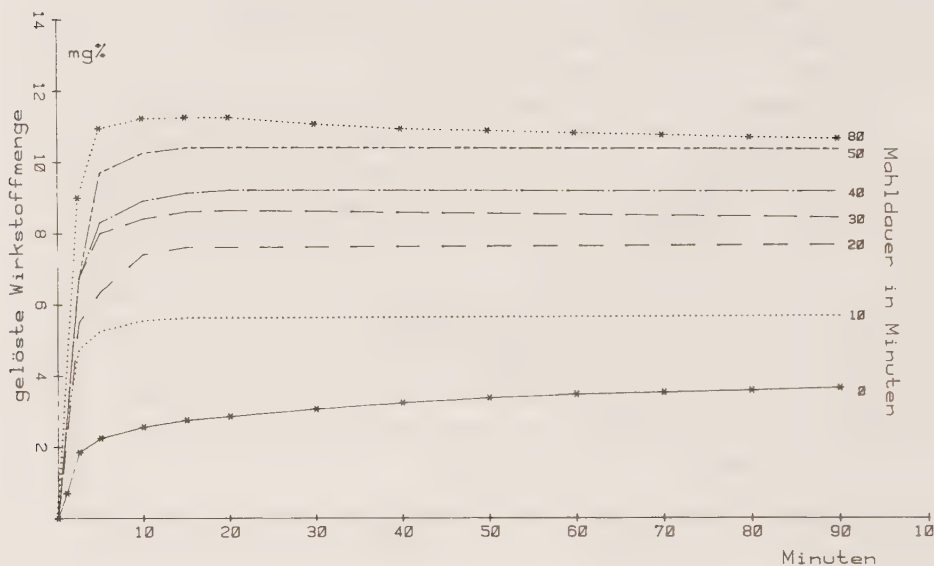


Abb. 19 Auflösungsprofile von gemahlenem, kristallinem Digoxin

Danach entsteht offensichtlich in Abhängigkeit von der Mahldauer ein "zweites" Produkt, das schneller in Lösung geht und höhere Sättigungskonzentrationen ergibt. Dieser Befund wird auch in Abbildung 20 deutlich, wo die Korrelation zwischen der nach 20 Minuten gelösten Wirkstoffmenge in mg% und dem K.I.-Wert dargestellt ist. Daß die Auflösungsgeschwindigkeit von mikronisiertem, d.h. teilkristallinem Digoxin jedoch nicht allein durch den prozentualen Anteil der amorphen Fraktion kontrolliert wird, konnte durch Löslichkeitsuntersuchungen von physikalischen Mischungen des kristallinen Ausgangsproduktes und amorphem, sprühgetrocknetem Digoxin nachgewiesen werden. Abbildung 21 verdeutlicht die Überlegenheit der durch tribomechanische Einwirkung teilamorphisierter Proben gegenüber den physikalischen Mischungen mit jeweils identischen röntgendiffraktometrisch ermittelten Kristallindizes.

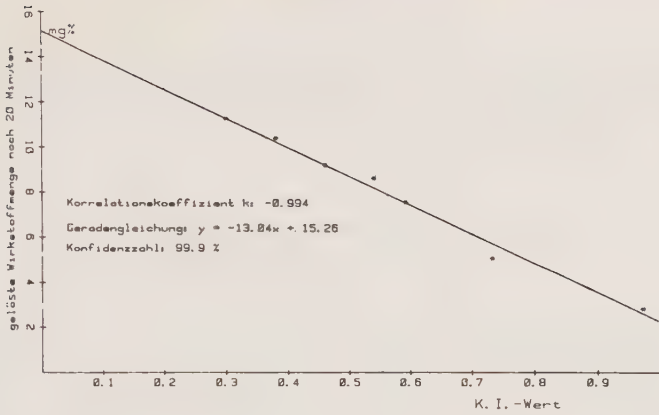


Abb. 20 Zusammenhang zwischen gelöster Wirkstoffmenge nach 20 Minuten und dem K.I.-Wert der Probe

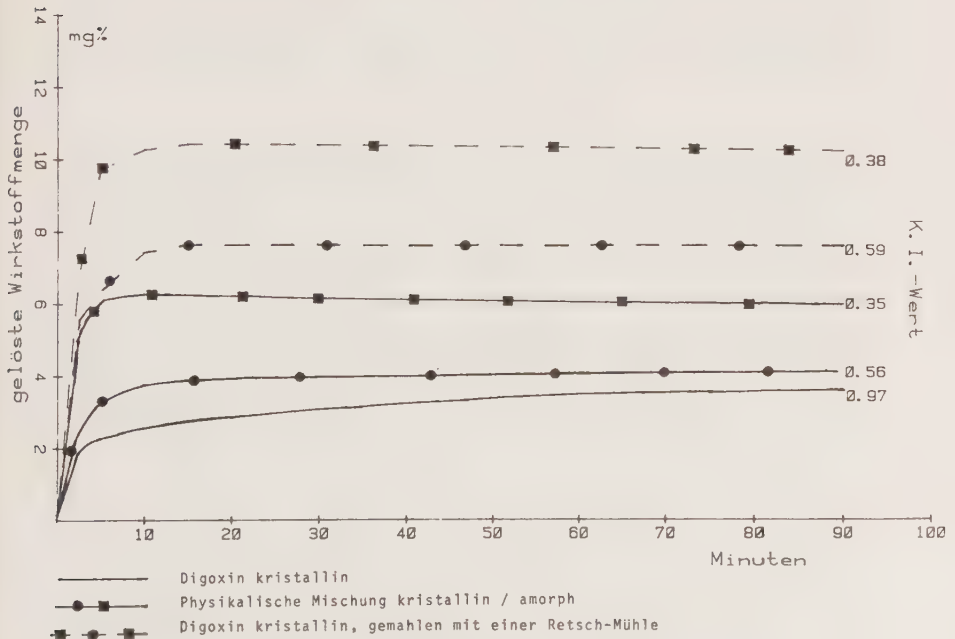


Abb. 21 Konzentrations-/Zeitprofile von unterschiedlichen Digoxin-Produkten mit teilweise identischen K.I.-Werten

Der Grund für diese Unterschiede bei fast gleichem K.I.-Wert mußte anschließend durch Ermittlung weiterer physikalischer Daten festgestellt werden.

2.4.2.6.1 Kritische Betrachtung zum benutzten Auflösungsmodell

Die gewählte Methode zur Bestimmung der Wirkstoffauflösung entspricht einem relativ häufig angewendeten In-vitro-Prüfungsmodell (153). Nach Äußerung einiger Autoren ist diese Methode für die exakte Ermittlung der Lösungsgeschwindigkeitskonstanten weniger geeignet, da nur scheinbar genauere Werte erhalten werden (145,146,147). Diese unterscheiden sich von den wahren Geschwindigkeitskonstanten, da die gemessene Wirkstoffliberation von einer Anzahl zeitabhängiger Variablen wie Partikelanzahl, spezifische Oberfläche und möglicherweise auch von Phasenumwandlungen begleitet wird.

Nach Auffassung der genannten Autoren besteht eine günstigere Möglichkeit zur Untersuchung der Wirkstoffauflösung in der Verwendung von Wirkstoffpreßlingen, sog. discs. Sie werden dem Auflösungsmedium so ausgesetzt, daß ihre Grenzfläche während des Inkubationsprozesses einen konstanten Wert behält (148, 149). Auf diese Weise sind in der Regel die wahren, d.h. oberflächenunabhängigen Freigabegeschwindigkeitskonstanten zugänglich; ebenfalls wird die Erfassung von Phasenumwandlungen an der Grenzschicht erkannt (150,151). Aus diesen Gründen wird im späteren Teil der Arbeit, im Rahmen der Charakterisierung von Wirkstoffeinbettungen, ein solches System benutzt.

FLORENCE und SALOLE (152) hatten für Digoxin eine Korrelierbarkeit beider Methoden gefunden, dieser Befund konnte bei Punkt 4.4.1 bestätigt werden. Daher wurde angesichts der Praxisnähe und schnellen Erfassung und Verarbeitung der Meßergebnisse zunächst die beschriebene In-vitro-Methode zur Bestimmung der Auflösungsgeschwindigkeit von Digoxin-Pulvern benutzt.

Da die Ausbildung übersättigter Lösungen in jedem Fall untersucht werden sollte, ist die Einhaltung von "sink"-Bedingungen (207) prohibitiv.

2.4.2.7 Zusammenfassung der bei mikronisierten Proben erhaltenen Ergebnisse

Die Resultate erbrachten den Nachweis, daß durch Mahlung kristallinen Digoxins - je nach Dauer der mechanischen Energiezufuhr - eine besser lösliche "Fraktion" gebildet wird. REM- und DTA-Untersuchungen deuten zwar auf das Vorhandensein einer amorphen Form hin, diese läßt sich jedoch bei der Bestimmung der Lösungsgeschwindigkeit vom "rein" amorphen Wirkstoff - enthalten in der physikalischen Mischung - unterscheiden. Im Vergleich zur röntgendiffraktometrischen Untersuchung weisen nur die DTA-Kurven auf die physikalischen Veränderungen solcher mikronisierter Proben hin.

Weiter konnte geklärt werden, warum es unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht möglich ist, kristallines Ausgangsmaterial durch Mahlung mit einer Retsch-Mörser-Mühle völlig zu amorphisieren (s. 2.4.2.4). Daher sollte im folgenden Abschnitt "rein" amorphes Digoxin, das durch Sprühtrocknung einer Lösung zugänglich ist, mit den bereits erwähnten physikalisch-chemischen Untersuchungsmethoden charakterisiert werden. Außerdem war die Frage zu klären, ob ein tribomechanisches Gleichgewicht* zwischen kristalliner und amorpher Form des Wirkstoffes nachweisbar ist.

*siehe 2.4.4.1

2.4.3. Amorphes Digoxin

2.4.3.1 Herstellung durch Sprühtrocknung

Wie NÜRNBERG (115) bereits früher nachweisen konnte, ist es möglich, Digoxin durch Sprühtrocknung einer Lösung in den amorphen Festzustand zu überführen. Dabei wird kristallines Digoxin in einer Mischung aus 7 Teilen Chloroform* und 3 Teilen Methanol gelöst und unter Verwendung eines Laborsprühtrockners unter den in der Tabelle 9 wiedergegebenen Bedingungen sprühtrocknet.

Tabelle 9 Zusammenfassung der Sprühparameter für die Herstellung von amorphem Digoxin.
Verwendetes Lösungsmittel: $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 7:3

Sprühtrockner	Eingangs- temperatur	Ausgangs- temperatur	Düsen- druck $\text{Pa} \cdot 10^5$	Luftdurch- satz, Zwei- stoffdüse NL^{**}/h	Vakuum mm H_2O
Mini Spray H0	403 K (130 °C)	363 K (90 °C)	1,3	--	40-50
Büchi 190	403 K (130 °C)	371 K (98 °C)	--	70	--

**Normliter

*Der Zusatz chlorierter Kohlenwasserstoffe erfolgt zur Herabsetzung der Explosionsgefahr;
über die toxikologische Problematik der Verwendung von Chloroform siehe Kapitel 4.

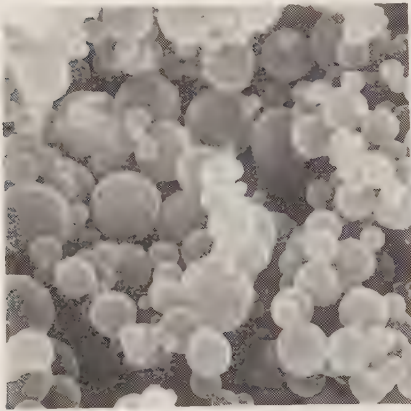
Die erhaltenen Sprühprodukte wurden unmittelbar nach Herstellung, sowie nach Lagerung bei Raumtemperatur, mittels HPLC auf Zersetzungerscheinungen überprüft (Bedingung siehe Tabelle 5). Dabei zeigten sich - wie auch bei allen weiter beschriebenen Proben - keine Unterschiede zur kristallinen Ausgangssubstanz.

Über das Verfahren der Sprühtrocknung von Wirkstoffen, den dazugehörigen theoretischen Grundlagen (154,155), der Beeinflussung der Produkteigenschaften durch die gewählten Sprühparameter (97,115,156) sowie die Anwendungsmöglichkeiten zur galenischen Optimierung liegen umfangreiche Übersichtsarbeiten vor (157,158,159,160,161), so daß auf deren Diskussion in der vorliegenden Arbeit verzichtet wurde.

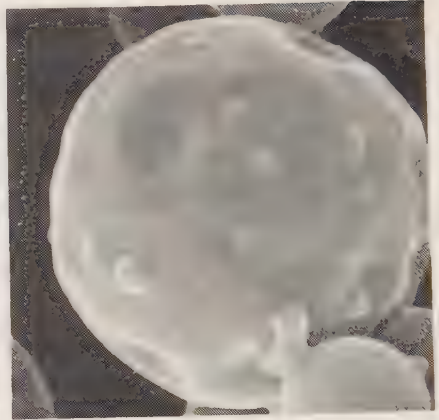
2.4.3.2 Physikalische Untersuchungen

Wie die rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen, Abbildung 22a und b, wiedergeben, fällt im allgemeinen gesprühtes Digoxin nach dem Trocknungsprozeß in der Laborapparatur in Form von durchschnittlich 5 µm großen Kugeln an. Bei größeren Anlagen resultieren Partikelgrößen von 50 bis 200 µm. NÜRNBERG konnte durch fekrumetrische Messungen von Sprühprodukten den Beweis führen (115), daß es sich dabei um Hohlkugeln handelt; über die theoretischen Grundlagen der Hohlkugelbildung siehe auch (162).

Abb. 22 REM-Aufnahme von gesprühtem Digoxin

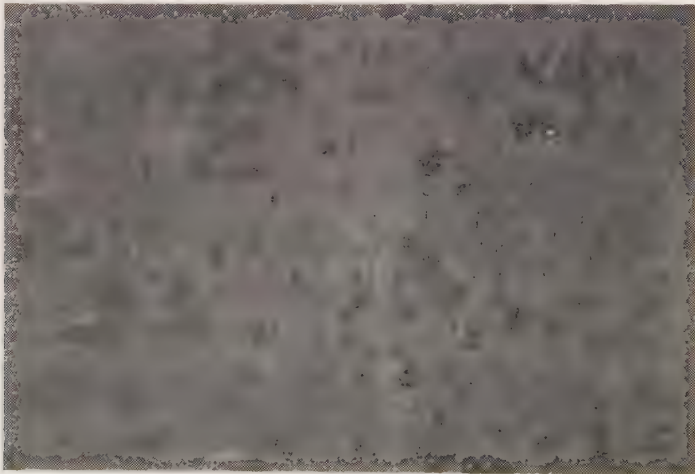


6,6 μm 
a) Vergrößerung 1500x



1,25 μm 
b) Vergrößerung 8000x

Die polarisationsmikroskopische Beobachtung zeigt das Vorhandensein des isotropen Wirkstoffs, d.h. das Phänomen der Doppelbrechung an Kristallflächen tritt nicht mehr auf (Abb. 23).



15 μm 

Abb. 23 Polarisationsmikroskopische Aufnahme von gesprühtem Digoxin

Unterschiede zum Ausgangsmaterial können auch durch IR- und RD-Untersuchungen, wie bereits beschrieben, nachgewiesen werden: Die gesprühte Substanz unterscheidet sich deutlich durch charakteristische Banden im IR-Spektrum vom kristallinen Handelsprodukt (s. Abb. 15) und zeigt im Röntgendiffraktogramm (Abb. 24) abweichend zu Abbildung 7 ein "amorphes Halo" mit einem Maximum bei einem Beugungswinkel 2θ von $14,9^\circ$. Unter Berücksichtigung einer möglichen Einschränkung nach 2.4.2.2.1 (Zweiphasenstruktur) und der Tatsache, daß bei geringen kristallinen Anteilen oder fein partikulären Produkten $< 10 \mu\text{m}$ kaum Interferenzen von kristallinen Körpern röntgendiffraktometrisch nachweisbar sind (130), deuten also die beschriebenen Untersuchungsergebnisse auf das Vorliegen einer amorphen Form des gesprühten Wirkstoffs hin.

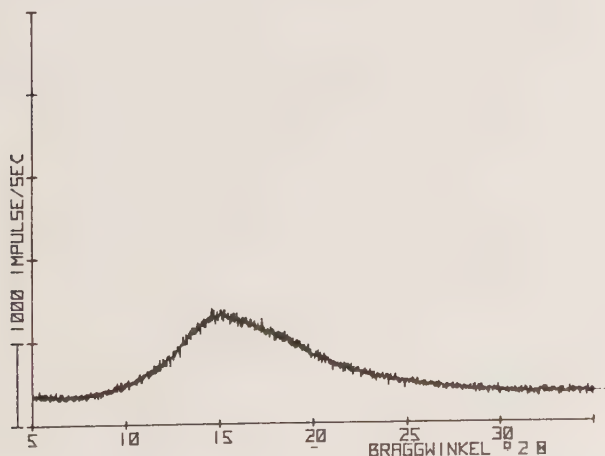


Abb. 24 Röntgendiffraktogramm von gesprühtem Digoxin

Wie unser Arbeitskreis bereits früher nachweisen konnte, ist es möglich auch andere Substanzen, vor allem Steroide, nach diesem Verfahren in einen amorphen Festzustand zu überführen (115,116).

Da der amorphe Zustand - im Vergleich zum kristallinen - der energiereichere ist, sind solche Systeme metastabil und neigen gemäß der Ostwald'schen Stufenregel (163) bei Lagerung zur Rekristallisation. KOHL (164) wies derartige Vorgänge für gesprühtes 9 α -Fluprednyliden-21-acetat durch rasterelektronenmikroskopische und röntgendiffraktometrische Untersuchungen nach.

Die Umwandlung von amorphen in kristalline Phasen verläuft substanzabhängig mit stark differierender Geschwindigkeit. Während der genannte Autor bereits nach 24 Stunden Kristalle nachweisen konnte, wurde bei den hier beschriebenen Untersuchungen in keinem Fall eine mehr oder weniger ausgeprägte Kristallisation beobachtet. Im Gegensatz zu anderen Sprühprodukten, die z.T. überhaupt nicht in den röntgenamorphen Zustand durch den Sprühtrocknungsprozeß zu überführen sind (Paracetamol (187)), verbleibt das gesprühte Glykosid noch Jahre nach der Herstellung röntgenamorph. Gezielte Versuche bewiesen, daß gesprühtes, amorphes Digoxigenin sich bei Lagerung bereits nach 4 Wochen in die kristalline Form umlagert, d.h. die Stabilität des amorphen Digoxins ist an das Vorhandensein der glykosidisch gebundenen Zucker gekoppelt.

Diese "ungewöhnliche" physikalische Stabilität des röntgenamorphen Digoxins war daher Ausgangspunkt und Gegenstand der folgenden Untersuchungen.

2.4.3.2.1 In-vitro-Auflösungsverhalten

Durch die Bestimmung der Auflösungsgeschwindigkeit (nach 2.4.2.5) wird die Tatsache verdeutlicht, daß der amorphe Festzustand wesentlich energiereicher ist, als der des kristallinen Digoxins (Abbildung 25).

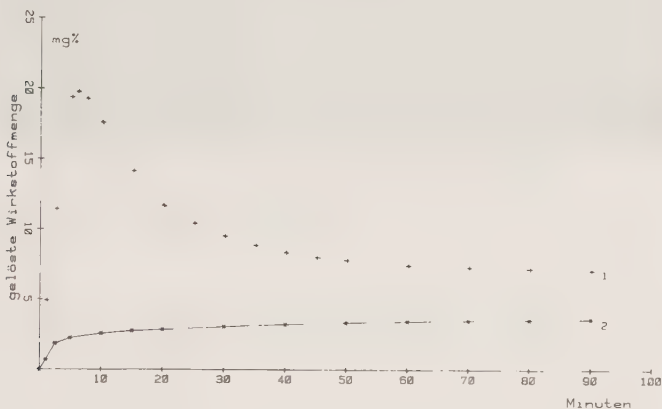


Abb. 25 Auflösungsprofile von gesprühtem (1) und kristallinem (2) Digoxin

Auffällig ist, daß es in der zunächst hochübersättigten Lösung (Übersättigungsquotient* $Q = 9,8$) bereits nach 5 Minuten zu einer raschen Konzentrationssenkung kommt, deren Ursache eine mikroskopisch nachweisbare Auskristallisation des Wirkstoffes ist (Abbildung 26).

Die Bedeutung dieses Phänomens wird im weiteren Verlauf der Arbeit angesichts der biopharmazeutischen Auswirkungen noch ausführlich diskutiert werden.

* $Q = \frac{\text{Konzentration Sprühprodukt (mg/100 ml)}}{\text{Konzentration kristalline Ausgangssubstanz (mg/100 ml)}}$

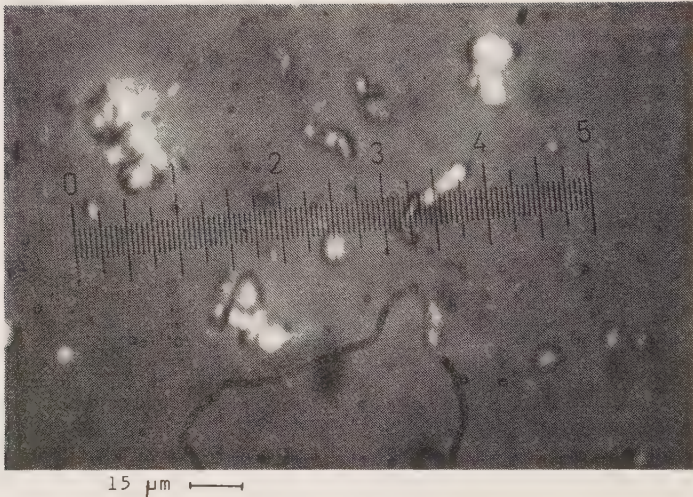


Abb. 26 Polarisationsmikroskopische Aufnahme von gesprühtem Digoxin, 15 Minuten nach Wasserzugabe

Tabelle 10 faßt die Wirkstoffkonzentrationen in wässriger Lösung der bisher untersuchten Produkte nach definierten Inkubationszeiten zusammen.

Tabelle 10 Maximalkonzentration an gelöstem Digoxin in wässriger Lösung (Temperatur: $310 \pm 0,1$ K)

	Inkubationszeit	
	5 Minuten	20 Minuten
Sprühprodukt	19,9 mg/100 ml	11,7 mg/100 ml
10 min. Mahlprodukt	5,3 mg/100 ml	5,65 mg/100 ml
20 min. Mahlprodukt	6,35 mg/100 ml	7,6 mg/100 ml
30 min. Mahlprodukt	8,2 mg/100 ml	8,6 mg/100 ml
40 min. Mahlprodukt	8,3 mg/100 ml	9,2 mg/100 ml
50 min. Mahlprodukt	9,75 mg/100 ml	10,4 mg/100 ml
80 min. Mahlprodukt	10,95 mg/100 ml	11,2 mg/100 ml

Aus dieser Tabelle geht die große Rekristallisationsneigung von gesprühtem Digoxin in wässrigen Inkubationsmedien hervor. Demgegenüber zeigen die mikronisierten Substanzen diese Tendenz nicht, d.h. sie bilden beim Auflösen über einen längeren Zeitraum konstant übersättigte Lösungen aus. Wegen der, in wässrigen Lösungen vorliegenden, großen Umwandlungsgeschwindigkeit des gesprühten Digoxins in die kristalline Form läßt sich keine Korrelation gemäß Abbildung 20 nachweisen, da bei einem K.I.-Wert von Null die theoretisch berechnete Wirkstoffkonzentration nach 20 Minuten 15,26 mg% beträgt, und nicht 11,7 mg%, wie gefunden.

Die Tatsache, daß gesprühtes Material ein unterschiedliches Auflöseverhalten im Vergleich zu den teilkristallinen Proben zeigt, wird auch bei Bestimmung der Sättigungskonzentration über einen längeren Zeitraum von 36 Stunden* - Tabelle 11 - sichtbar:

Tabelle 11 Digoxin-Sättigungskonzentration nach
36-stündiger Inkubation in wässriger
Lösung (Temperatur: $310 \pm 0,1$ K)

Kristallines Ausgangsprodukt	3,143 mg/100 ml
Sprühprodukt	4,710 mg/100 ml
50 min. Mahlprodukt	6,812 mg/100 ml

Unterschiedliche Sättigungskonzentrationen können in der Regel als Indizien für die Existenz von Modifikationen des Wirkstoffs angesehen werden (117). Nach NIKOLICS et al. (165), die mehrere Untersuchungsmethoden zur Charakterisierung polymorpher Substanzen verglichen hatten, ist die DTA für die Unterscheidung verschiedener Kristallformen am besten geeignet.

*Siehe Anhang.

Diese Aussage stimmt auch mit meinen Beobachtungen gemäß 2.4.2.4 überein, wonach die Röntgendiffraktometrie bezüglich ihrer Empfindlichkeit im vorliegenden Fall hinter der DTA eingeordnet werden muß.

2.4.3.2.2 Thermoanalytische Untersuchungen

Abbildung 27 gibt die - mit konstanter Aufheizgeschwindigkeit von 5 K/min. - registrierte DTA-Kurve einer gesprühten Digoxin-Probe wieder.

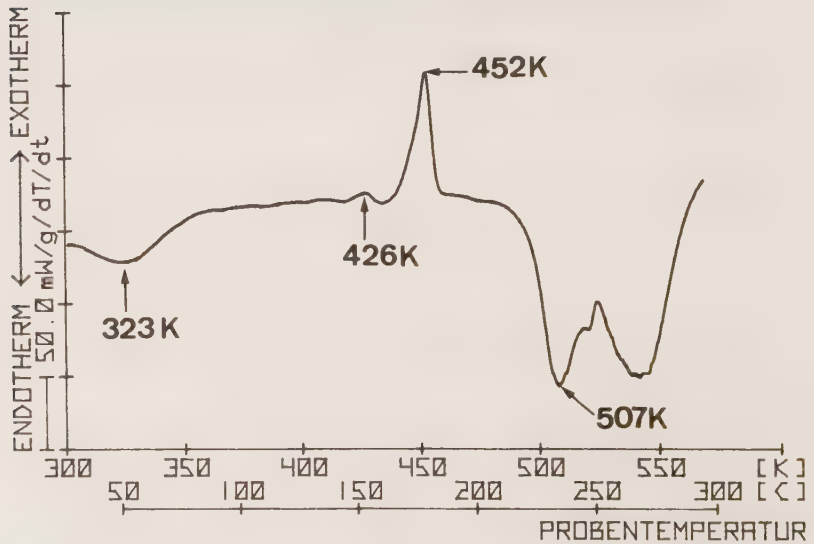


Abb. 27 DTA-Kurve von gesprühtem Digoxin
(5 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

Im Vergleich zur kristallinen (s. Abb. 16a) bzw. mikronisierten Substanz sind folgende Unterschiede deutlich erkennbar:

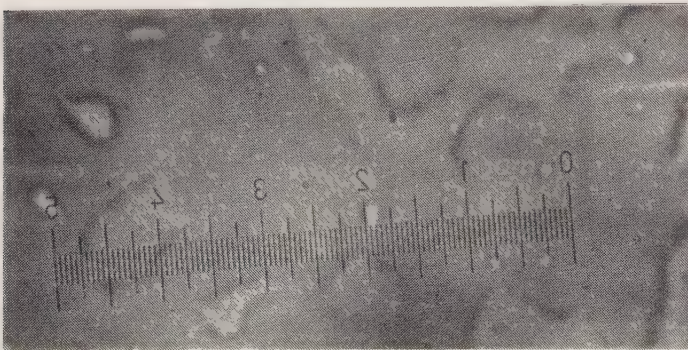
Beim gesprühten Digoxin beginnt bei 303 K (30 °C) ein endothermes Signal, das bei 323 K (53 °C) ein Maximum aufweist.

Nach Einschwenken der DTA-Kurve bei 363 K (90°C) auf die Basis folgt bei 421 K (148°C) im Anschluß an einen schwachen endothermen Ausschlag ein kleiner exothermer Peak. Ab 440 K (167°C) weist die Kurve ein stark ausgeprägtes exothermes Signal mit einem Maximum bei 452 K (179°C) auf. Bei 493 K (220°C) beginnt der von einer Zersetzung (erkenntlich an der TG-Kurve Abbildung 16b) begleitete Schmelzvorgang.

Um eine Interpretation der beobachteten thermischen Effekte vornehmen zu können, wird die gesprühte Digoxin-Probe mit Hilfe eines Polarisationsheizmikroskopes und röntgendiffraktometrisch bei höheren Temperaturen untersucht. Zusätzlich werden getemperte Proben rasterelektronenmikroskopisch charakterisiert. Es ergeben sich dabei folgende Erkenntnisse:

1) Polarisationsheizmikroskopie

Bei Raumtemperatur ($298\text{ K} = 25^{\circ}\text{C}$) liegt die röntgenamorphe Substanz in Form von optisch isotropen Hohlkugeln vor (Abb. 23). Ab 303 K (30°C) werden zusätzlich tropfenförmige Strukturen sichtbar, die bei 323 K (50°C) schlierenartig zusammenlaufen (Abbildung 28).

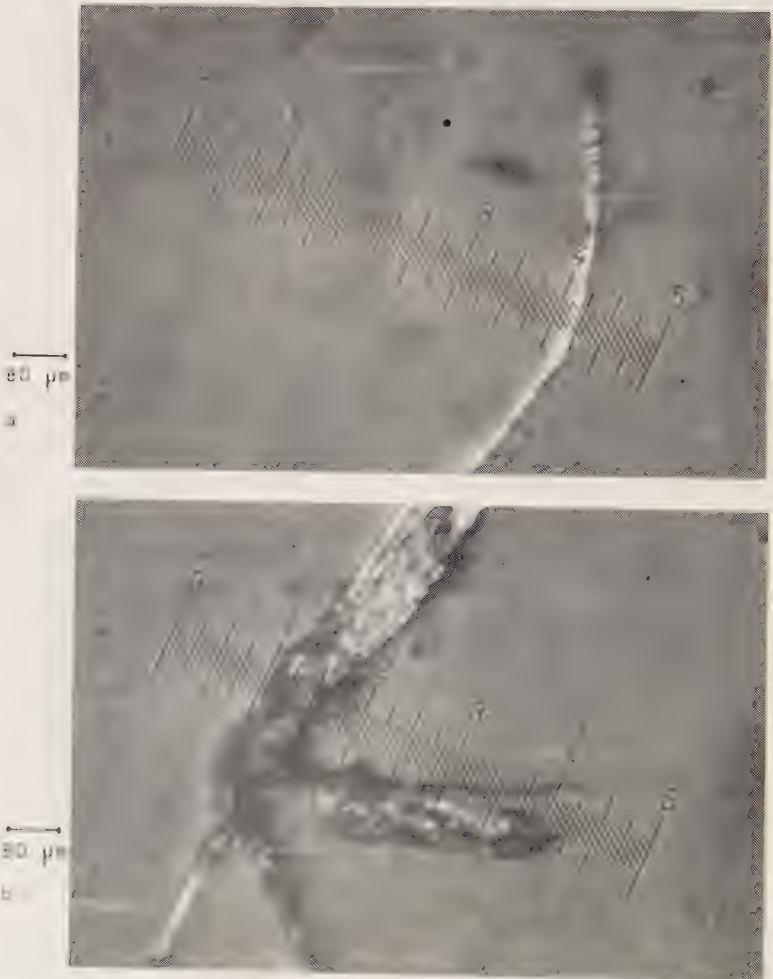


20 μm $\longleftrightarrow$

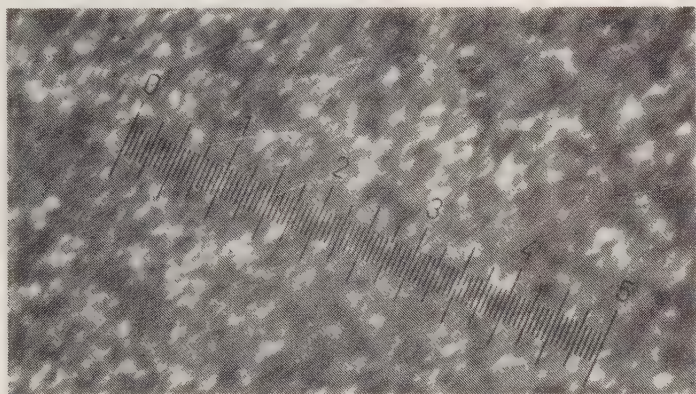
Abb. 28 Polarisationsmikroskopische Aufnahme von gesprühtem Digoxin, $T = 323\text{ K}$ (50°C)

Neben weiterhin unveränderten Kugeln und den Schlieren erkennt man bei 353 K (80 °C) fadenförmig ausgeprägte, optisch anisotrope Bezirke, die bei weiterer Temperaturerhöhung (363 K, 90 °C) sich zusammenlagern und erweitern (Abb. 29a und b).

Abb. 29 Gesprühtes Digoxin bei 363 K (90 °C)



Bei 423 - 443 K (150 - 170 °C) zeigt die Substanz "Erweichungsphänomene" und es bilden sich in verschiedenen isotropen Bezirken noch nicht anisotrop sichtbar geordnete Bereiche aus. Erst ab 453 K (180 °C) leuchten diese Strukturen im polarisierten Licht auf (Abbildung 30), d.h. sie lassen den kristallinen Charakter deutlich erkennen.



8 μm

Abb. 30 Gesprühtes Digoxin bei 453 K (180 °C)

2) Röntgendiffraktometrie

Röntgendiffraktometrisch zeigt im gewählten Untersuchungsbe-
reich (2θ 5 - 35°) die Substanz bis zu einer Temperatur von
423 K (150 °C) keine Reflexe. Bei weiterer Temperaturerhöhung
auf Werte über 428 K (155 °C) sind zunächst nur schwach aus-
geprägte Reflexe der 3 Hauptpeaks des kristallinen Digoxins
zu erkennen (vgl. auch Abbildung 7). Das Anwachsen dieser
Signale sowie das Auftreten anderer, für kristallines Digo-
xin typischer Peaks, weisen auf die Rekristallisation der
amorphen Form ab 458 K (178 °C) hin (Abbildung 31).

Dabei fällt auf, daß unter den gewählten Bedingungen ein
K.I.-Wert von 0,8 festgestellt wird.

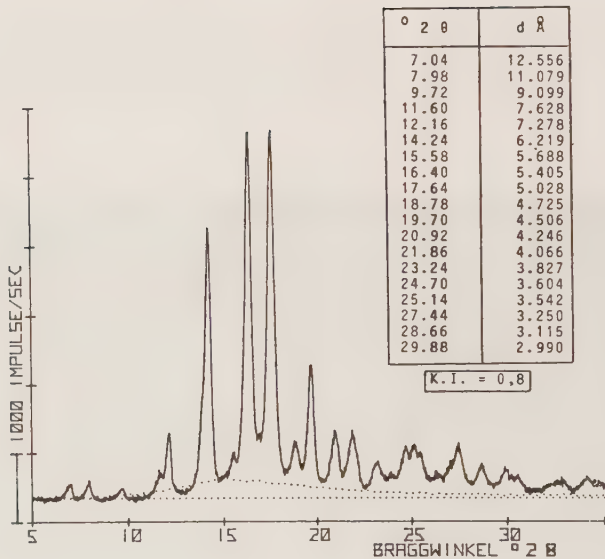


Abb. 31 Röntgendiffraktogramm von gesprühtem Digoxin bei 458 K (178 °C)

3) Rasterelektronenmikroskopie

Bei Betrachtung der DTA-Kurven und der polarisationsmikroskopischen Aufnahmen (Abbildung 28 - 30) im Bereich von 303 - 443 K (30 - 140 °C), d.h. unterhalb der eigentlichen Rekristallisationstemperatur, findet man Hinweise auf eine Veränderung des röntgenamorphen Materials. Es wurde daher versucht durch REM-Aufnahmen eine Klärung zu erreichen. Dazu mußten Substanzproben zunächst bei 443 K (170 °C) in der DTA getempert werden. Wie die Abbildung 32 erkennen läßt, liegen die ursprünglich vorhandenen Hohlkugeln nicht mehr vor (s. Abbildung 22), sondern es hat eine lamellenförmig angeordnete, teilweise vernetzte Ausrichtung der Substanz stattgefunden.

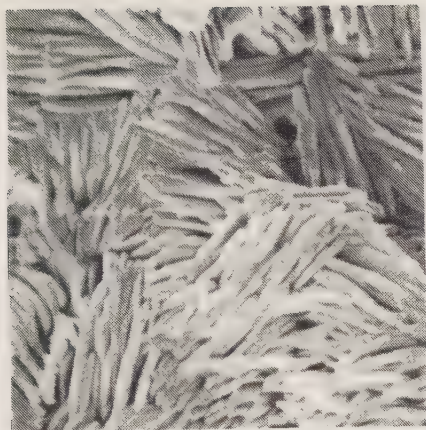


Abb. 32

REM-Aufnahme von auf 443 K
(170 °C) getempertes, ge-
sprütztes Digoxin.

Vergrößerung: 3000x

3,5 μm 

Somit ist aus dem röntgenamorphen Produkt ein System mit höherem Ordnungszustand - sog. Parakristalle - intermediär entstanden, was auch im Einklang mit dem ersten exothermen Signal in der DTA-Kurve (Abbildung 27) steht.

4) Differentialthermoanalyse

Bei der thermoanalytischen Untersuchung der gesprützten Substanz sind die registrierten DTA-Phänomene von der Aufheizgeschwindigkeit der Probe abhängig. Wie bei kristallinem Digoxin schon beobachtet, lassen sich grundsätzlich folgende Erscheinungen feststellen (166):

- A) Der Substanzumsatz pro Zeiteinheit wird beim schnellen Aufheizen größer, dadurch werden die DTA-Peaks höher.
- B) Bei großer Heizrate und Aufzeichnung der DTA-Kurve als Funktion der Probentemperatur werden die Signale infolge eines größeren räumlichen Temperatur-Gradienten innerhalb der Probe verbreitert.

Diese Beobachtungen gelten jedoch nur für "ideal" schmelzende Substanzen. Die dabei ermittelten Schmelzenthalpien pro Gramm Wirkstoff sind unabhängig von der Heizrate, da bei großer Energiezufuhr pro Zeiteinheit zwar die Temperaturdifferenz ΔT zwischen Probe und Referenz vergrößert wird, die Reaktion aber auch in kürzerer Zeit - dt - abläuft, so daß die Fläche $F = \int \Delta T \cdot dt$ in etwa konstant bleibt.

Beim Vergleich der mit unterschiedlicher Heizrate registrierten DTA-Kurven (Abbildung 27, 33a, b) des gesprühten Digoxins zeigen sich nur zum Teil die unter A und B genannten Erscheinungen.

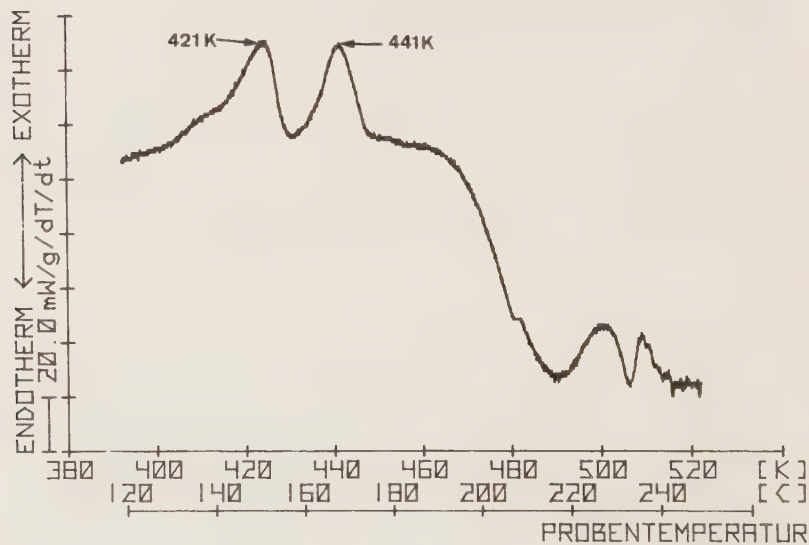


Abb. 33a DTA-Kurve von gesprühtem Digoxin
(2 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

Zusätzlich treten folgende Phänomene auf: Bei einer relativ niedrigen Aufheizgeschwindigkeit von 2 K/min. (Abb. 33a) werden überraschend z w e i etwa gleich große exotherme Peaks bei 421 K (148 °C) und 441 K (168 °C) beobachtet.

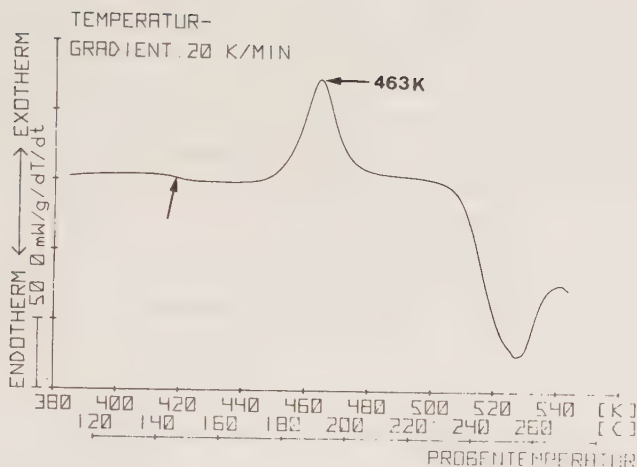


Abb. 33b DTA-Kurve von gesprühtem Digoxin
(20 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

Im Gegensatz dazu erhält man beim raschen Aufheizen (20 K/min.) nur ein stark ausgeprägtes exothermes Signal bei 463 K (190 °C) sowie eine schwache Auslenkung der Basislinie bei 413 K (140 °C) (Abbildung 33b).

Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß sich beim Aufheizen einer amorphen Digoxin-Probe dynamisch ablaufende Vorgänge abspielen. Wie die bereits erwähnten raster- und thermomikroskopischen Untersuchungen gezeigt haben, treten schon vor der Rekristallisation des amorphen Wirkstoffs - erkenntlich am 1. exothermen Peak - lamellen- und fadenförmige Strukturen auf.

Der 2. exotherme Peak in Abbildung 33a zeigt die Phasenumwandlung des parakristallinen Digoxins in den kristallinen Zustand an, was durch später beschriebene Untersuchungen tribomechanisch vorbehandelter Proben (2.4.4.2) nachgewiesen wird.

Beim raschen Aufheizen (20 K/min.) wird gesprühtes Digoxin scheinbar direkt in den kristallinen Zustand überführt. Da jedoch die Zustandsänderungen beim Aufheizen dynamisch ablaufen,

besteht bei hoher Heizrate die Möglichkeit, daß die einzelnen Teilschritte durch den breiten Rekristallisationspeak "verdeckt" werden. Einen Hinweis auf die physikalische Änderung im Amorphen vor der Umwandlung in die kristalline Form des Wirkstoffes gibt die nur bei großer Aufheizgeschwindigkeit registrierte Abweichung von der Basislinie bei 416 K (143 °C), die die sog. Glasumwandlung einer amorphen Substanz erkennen läßt (Abbildung 33b).

Somit wird im vorliegenden Fall verdeutlicht, daß ein Vergleich der DTA-Kurven dieser Digoxin-Produkte nur bei exakter Einhaltung konstanter Aufheizbedingungen möglich ist.

2.4.3.2.3 Bestimmung der Glasumwandlungstemperatur T_G

Die Glasumwandlungstemperatur T_G wird als die Temperatur definiert, bei der eine Änderung im physikalischen Gefüge einer Substanz - erkenntlich an den Werten für die spezifische Wärme c_p und der Viskosität - auftritt. Sie zeigt an, daß sich der "glasartige" Zustand in einen "flüssigen" umwandelt (169). Von MÜLLER und ECKERT wurde die Bestimmung der Glasumwandlungstemperatur T_G mittels DTA zum Nachweis des amorphen Feststoffcharakters von speziell vorbehandeltem Digoxin* angewandt (167). Bisher wurde dieser Temperaturwert vorwiegend zur Kennzeichnung amorpher makromolekularer Stoffe benutzt (168).

Im Gegensatz zu Umwandlungen 1. Ordnung, die beim Schmelz- und Rekristallisationsprozeß vorliegen, handelt es sich bei der Glastransformation um eine Umwandlung 2. Ordnung, die durch einen Sprung in der c_p -Temperatur-Kurve charakterisiert ist (Abbildung 34).

*Herstellung durch Abdampfen einer ethanolischen Digoxin-Lösung im Rotationsverdampfer

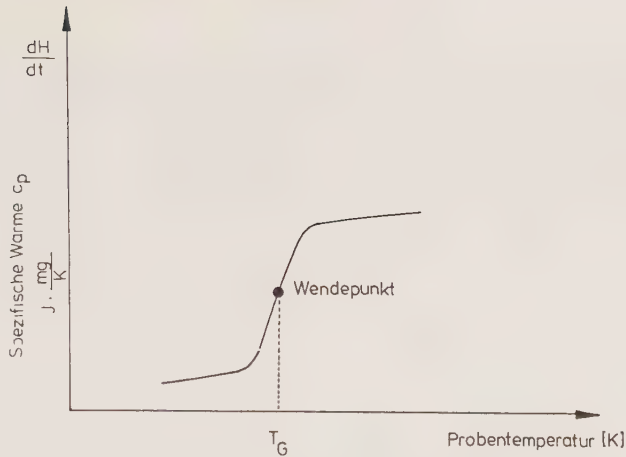


Abb. 34 Graphische Ermittlung der Glasumwandlungs-
temperatur T_G (Erklärung siehe Text)

Heizt man in der DTA eine amorphe, glasartig erstarrte Probe auf, so erhält man eine Kurve (Abbildung 35a) mit ähnlichem

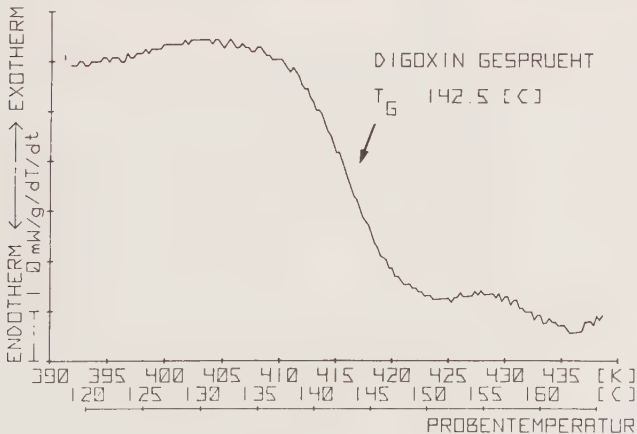


Abb. 35a DTA-Kurve von gesprühtem Digoxin
(15 K/min., N_2 : 25 ml/min., vergrößerter Aus-
schnitt des Produktes aus Abbildung 33b)

Verlauf wie die c_p -Temperatur-Kurve, weil die registrierten Werte proportional den c_p -Daten sind. Der Wendepunkt gibt die Glasumwandlungstemperatur T_G an. Mit der von mir benutzten DTA-Anlage kann man die spezifische Wärme c_p einer Probe auch direkt bestimmen. Dem verwendeten Meßprinzip liegen dabei folgende Gleichungen zu Grunde:

$$c_p = \frac{dH}{dT} \cdot \frac{1}{m} \quad (Gl. 6)$$

c_p = spezifische Wärme bei konstantem Druck (J/gK)

dH = infinitesimale Enthalpieänderung der Probe (mJ)

dT = infinitesimale Temperaturänderung der Probe (K)

m = Probenmasse

Multipliziert man diese Definitionsgleichung mit dt/dt (dt = infinitesimaler Zeitunterschied) folgt:

$$c_p = \frac{dH/dt}{dT/dt} \cdot \frac{1}{m} \quad (Gl. 7)$$

dH/dt = Wärmestrom zur Probe, eigentlich Wärmeleitung (mW)

dT/dt = Heizgeschwindigkeit der Probe (K/s).

Da die Probenmasse m bekannt ist, dT/dt während der Untersuchung konstant gehalten und dH/dt registriert wird, kann mittels eines Rechner-Programmes die c_p -Änderung einer Substanz bei bis zu 50 verschiedenen Temperaturen nach Gleichung 7 berechnet werden. Nach diesem Verfahren wurde, wie Abbildung 35b ausweist, die Änderung der c_p -Werte beim Aufheizen für amorphes Digoxin vermittelt und ein T_G -Wert von 415 K (142 °C) bestimmt.

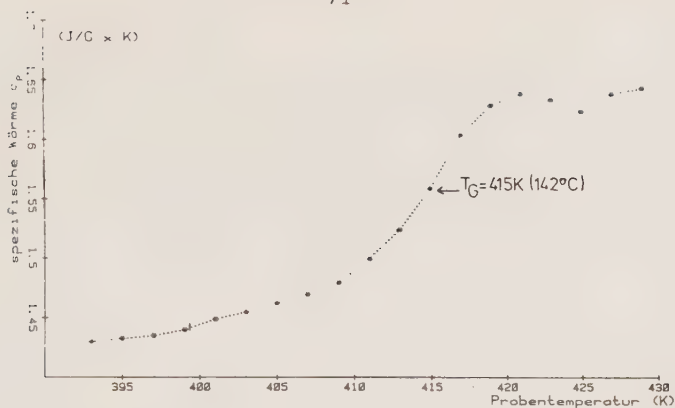


Abb. 35b c_p -Temperatur-Kurve von gesprühtem Digoxin
(10 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

Abbildung 35a zeigt einen vergrößerten Ausschnitt der DTA-Kurve des bereits in den Abbildungen 27, 33a und 33b wiedergegebenen gesprühten Produktes, aus der auch die Glasumwandlungstemperatur T_G bei 415,5 K ($142,5^\circ\text{C}$) entnommen werden kann.

MÜLLER und ECKERT hatten aber bei ihren T_G -Bestimmungen einen Wert von 425 K (152°C) ermittelt. Um die Ursache des Unterschiedes zu klären, war es notwendig, weitere DTA-Untersuchungen von mehreren gesprühten Digoxin-Chargen, die alle röntgenamorph waren, durchzuführen. Als Ergebnis zeigte sich, daß zwar der Literaturwert von 425 K bei einigen Proben bestätigt werden konnte (Abbildung 36), andererseits die von mir ermittelten Werte im Bereich von 411 - 426 K (138 - 153°C) schwankten.

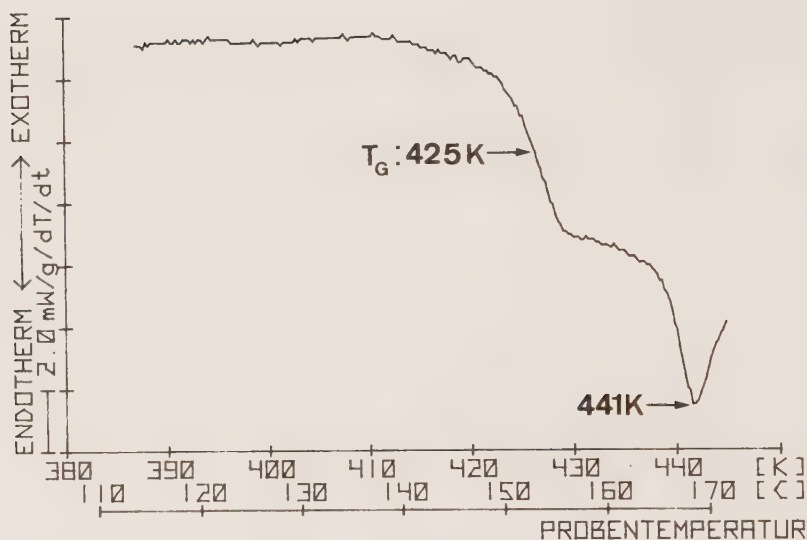


Abb. 36 Ausschnitt aus DTA-Kurve von gesprühtem Digoxin (15 K/min., N_2 : 25 ml/min., nicht identisch mit der Probe aus Abb. 27, 33a und 33b)

Daraus kann nur gefolgert werden, daß neben einem "völlig" amorphen Zustand des gesprühten Wirkstoffs noch andere Formen existieren, die durch mehr oder weniger geordnete Bereiche in der amorphen Substanz charakterisiert sind und den bei der REM-Untersuchung nachgewiesenen Strukturen entsprechen (Abbildung 32).

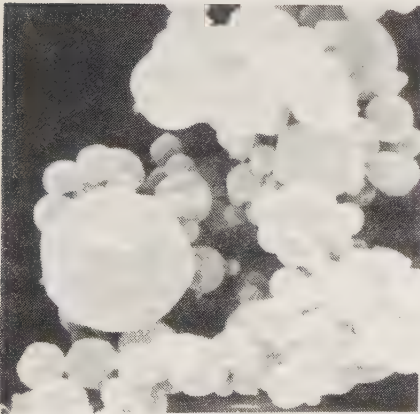
Auf das mögliche Vorhandensein einer Ordnung weist auch der endotherme Peak im Anschluß an die Glasumwandlung bei 441 K (168 °C) hin (Abbildung 36), der jedoch nur bei manchen gesprühten Produkten registriert werden konnte. HENTZE (170) hatte bei thermoanalytischen Bestimmungen der Glasumwandlung amorpher Kunststoffe ebenfalls solch eine "Glasspitze", die formal wie eine Umwandlung 1. Ordnung aussieht (171), nachweisen können. Als Erklärungsmöglichkeit postulierte er die Existenz einer amorph-amorphen Zweiphasenstruktur.

Zur Bestätigung dieser Annahme kann auch auf analoge Beobachtungen anderer Autoren hingewiesen werden.

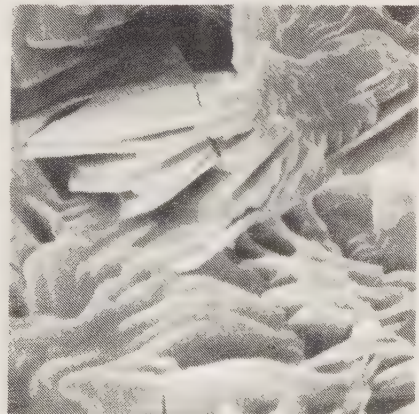
So fanden YEH und GEIL (172) bei der elektronenmikroskopischen Untersuchung von röntgenamorphen Polyäthylenterephthalat einachsige parakristalline Strukturen. Die Existenz von Ordnungszuständen publizierte der Arbeitskreis von W. FRANK für amorphes Polycarbonat (173).

Sollte eine amorph-amorphe Zweiphasenstruktur auch für Digoxin zutreffen, so müßte man bereits in einigen der gesprühten Substanzen neben "völlig" amorphen Hohlkugeln parakristalline Formen des Wirkstoffs finden. Es wurden daher rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen von verschiedenen röntgenamorphen Digoxin-Chargen angefertigt. Sie lassen, wie die Abbildungen 37a, b, c, ausweisen, neben Hohlkugeln schichtenförmig angeordnete Strukturen erkennen.

Abb. 37 REM-Aufnahmen verschiedener gesprühter Digoxin-Chargen



a



b

Vergrößerung: 3000x

3,5 μm $\longleftrightarrow$



c

Vergrößerung 1500 x

6,6 μm 

Diese parakristalline Ordnung dürfte auch für die Beobachtung verantwortlich sein, daß man bei m a n c h e n der gesprühten Digoxin-Proben keinen exothermen Rekristallisationspeak beim Aufheizen in der DTA erhält. In diesen Fällen bezieht sich der endotherme Schmelzpeak unterhalb 473 K (200 °C) nicht auf Kristallite, sondern auf die parakristallinen Strukturen und ist als Umwandlung 1. Ordnung in der DTA sichtbar. Ähnliche Beobachtungen sind in der Literatur für aliphatische C_{18} - C_{34} -Kohlenwasserstoffe (174) und geradzahlige Polyamide (175) beschrieben worden.

Aus den bisher ermittelten Versuchsergebnissen läßt sich ableiten, daß beim Versprühen einer Digoxin-Lösung in allen Fällen ein röntgenamorphes Produkt entsteht. Neben amorphen Hohlkugeln können jedoch Anteile auftreten, die eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Ordnung (Parakristalle) aufweisen. Der experimentelle Beweis für derartige Zustandsformen des Digoxins gelang m.W. erstmalig durch die vorliegende Arbeit.

Nachdem somit die Existenz von amorph-parakristallinen Digoxin-Produkten erkannt wurde, interessierte die Frage, ob außer thermisch induzierten Umwandlungen auch durch Einwirkung von mechanischer Energie Änderungen im amorphen Gefüge auftreten und ob sich ein tribomechanisches Gleichgewicht zwischen kristalliner und amorpher Form einstellt. Daher sollen die Auswirkungen einer Mahlung auf amorphes Material im nächsten Abschnitt untersucht werden.

2.4.4 Tribomechanisch behandeltes gesprühtes Digoxin

2.4.4.1 Herstellung

Wie bereits erwähnt, war es unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht möglich, kristalline Handelssubstanz mit einer Retsch-Mörser-Mühle "völlig" zu amorphisieren, da die Kristalle bei mechanischer Bearbeitung mit einer amorphen Schicht überzogen werden (Abbildung 17), die die weitere Zerstörung der "Partikelkerne" erschwert. Am Beispiel des Sulfanilamids konnte JUNGINGER (111) durch Vermahlen der Modifikation I in einer Kugelmühle nach 20 Stunden zum größten Teil die Modifikation II des Wirkstoffs darstellen. Diese ließ sich jedoch durch einen Mahlprozeß nur in geringem Umfang in Modifikation I zurückverwandeln. Somit kann durch mechanische Energiezufuhr ein sog. "tribomechanisches Gleichgewicht" erhalten werden, das, unabhängig von der Ausgangsmodifikation, nach längerer Mahldauer unter gleichen Bedingungen ein definiertes Mengenverhältnis von metastabiler zu stabiler Phase besitzt. Beispiele tribomechanischer Modifikationsgleichgewichte (176) wurden von SCHRADER et al. (177) beim Vermahlen von CaCO_3 und PbO_2 (178) festgestellt.

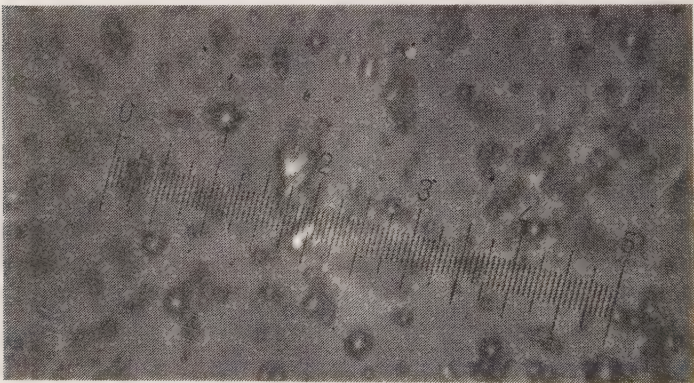
Angemerkt sei die Tatsache, daß, im Gegensatz zu einem thermodynamischen Gleichgewicht, die Gleichgewichtslage und die Geschwindigkeit der Einstellung von der Geometrie der Mühle sowie von den Mahlbedingungen und der damit verbundenen unterschiedlichen Art und Größe der während der Mahlung vorherrschenden Kräfte abhängig ist.

Daher wurden jeweils 1000 mg gesprühtes Digoxin unter den bei 2.4.2.1 angegebenen Versuchsbedingungen mit der Retsch-Mühle gemahlen. Nach verschiedener Mahldauer wurden Substanzproben entnommen und mit den bereits erwähnten physikalischen Untersuchungsmethoden charakterisiert.

2.4.4.2 Physikalische Untersuchungen unter besonderer Berücksichtigung von Röntgenkleinwinkelaufnahmen

Wie die mikroskopischen Aufnahmen Abbildung 38a, b, c, zeigen, sind nach der mechanischen Bearbeitung der isotropen gesprühten Substanz anisotrope Bezirke im polarisiertem Licht deutlich nachweisbar.

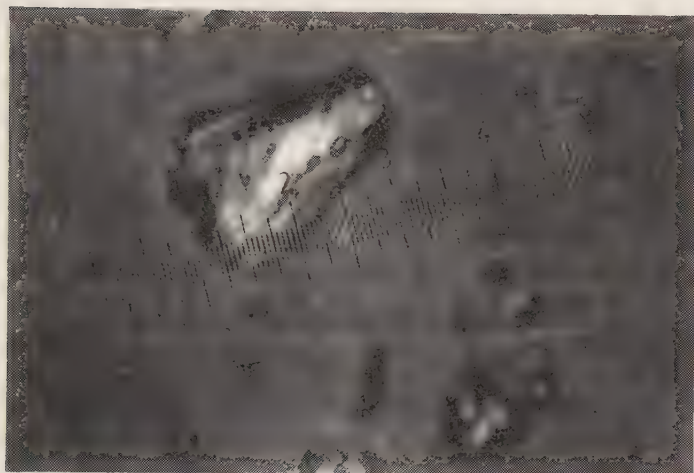
Abb. 38 Polarisationsmikroskopische Aufnahmen von gesprühtem und anschließend gemahlenem Digoxin



a) Mahldauer: 2 Minuten

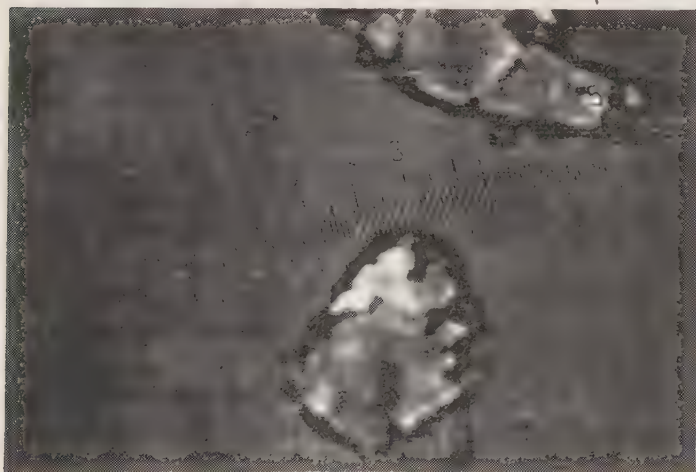
15 μm 

Das Verhältnis isotrop/anisotrop nimmt zeitabhängig mit der Mahldauer ab und man gewinnt nach einer Mahldauer von 20 Minuten (Abbildung 38) den Eindruck eines kristallinen Produktes.



b) Mahldauer: 10 Minuten

15 μm



c) Mahldauer: 20 Minuten

15 μm

Fertigt man nun von diesen Proben Röntgenweitwinkelaufnahmen (Abbildung 39) und IR-Spektren an, so erscheinen die gemahlten Substanzen überraschenderweise röntgen- bzw. IR-amorph. Diese Untersuchungsmethoden zeigen also im Gegensatz zur polarisationsmikroskopischen Betrachtung keine Ordnungszustände im amorphen Material.

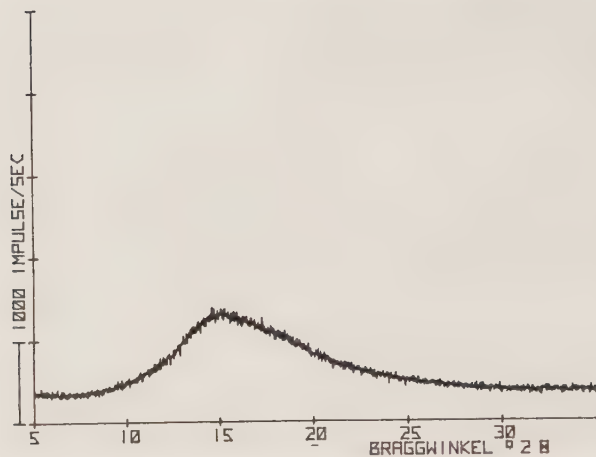


Abb. 39 Röntgendiffraktogramm einer 10 Minuten lang gemahlenen, gesprühten Digoxin-Probe

An dieser Stelle sei nochmals auf die Arbeit von HENDUS und SCHNELL (135) verwiesen, die am Beispiel von hochpolymeren Kunststoffen den Beweis erbringen konnten, daß Gitterstörungen 1. und 2. Art im Röntgendiffraktogramm ein amorphes Halo verursachen können, ohne daß eine amorphe Phase vorliegt (2.4.2.2.1).

Die Beobachtung, wonach der amorphe Zustand des gesprühten Glykosids nach mechanischer Energieeinwirkung zumindest partiell verändert wird, kann auch durch folgende Untersuchungen bestätigt werden:

- 1) Beim Vergleich des In-vitro-Auflösungsverhaltens (Bedingungen wie 2.4.2.6) von gesprühtem (Kurve 1) und nach dem Versprühen gemörsertem Digoxin (Kurve 2) wird der unterschiedliche physikalische Zustand beider Substanzen sichtbar (Abbildung 40):

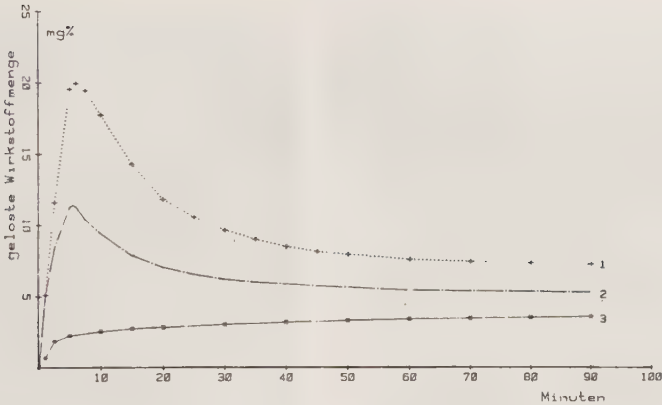


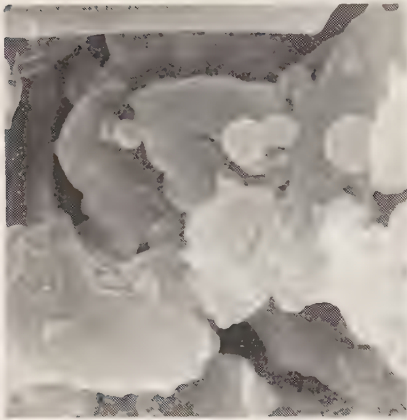
Abb. 40 Konzentrations/Zeit-Profile verschiedener Digoxin-Proben, gesprüht (1), gesprüht und gemahlen (2), kristallin (3)

Das röntgenamorphe Ausgangsmaterial erreicht höhere maximale Konzentrationswerte ($Q = 9,8$) in Lösung als das ebenfalls röntgenamorph erscheinende, gemahlene Produkt ($Q = 5,02$).

- 2) Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (Abbildung 41a, b, c, d, e, f) beweisen besonders deutlich die Existenz charakteristischer Ordnungszustände.

Neben verhältnismäßig einfachen Strukturen, die durch eine Art plastisches Zusammenfließen der Hohlkugeln entstanden sein müssen (Abb. 41a, b), sind einachsige ungeordnete "Scheibchen" (Abb. 41c) und geschichtet angeordnete, lamellenförmig erscheinende Zustände des Wirkstoffs (Abb. 41d, e, f) zu erkennen. Die letztgenannten Formen finden sich "nesterartig" neben den anderen und weisen eine "Schichtendicke" von ca. 400 Å auf.

Abb. 41 REM-Aufnahmen von gesprühtem, gemahlenem Digoxin



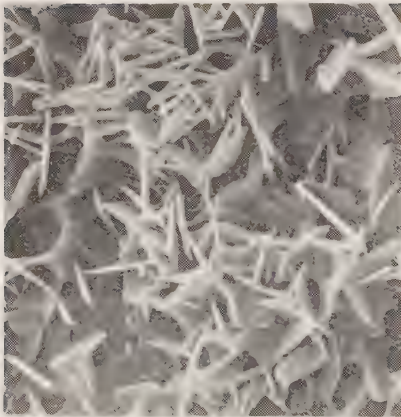
10 µm —

a) Vergrößerung 1000x
Mahldauer: 30 Minuten



6,6 µm —

b) Vergrößerung 1500x
Mahldauer: 40 Minuten



6,6 µm —

c) Vergrößerung 1500x
Mahldauer: 40 Minuten



6,6 µm —

d) Vergrößerung 1500x
Mahldauer: 10 Minuten



2 μm

e) Vergrößerung 5000x
Mahldauer: 10 Minuten



1 μm

f) Vergrößerung 10 000x
Mahldauer: 10 Minuten

Setzt man diesen Wert für d (Ebenenabstand) in die Bragg'sche Gleichung:

$$n\lambda = 2 d \sin \theta \quad (\text{Gl. 8})$$

λ = verwendete Wellenlänge, 1,5418 Å

θ = Beugungswinkel

n = 1, 2, 3 ...

ein, so läßt sich ein Wert von 0,22° für den Beugungswinkel 2θ berechnen. Damit wird nun erklärlich, warum die Proben im Weitwinkelbereich von 2θ 5 - 35° röntgenamorph erscheinen mußten. Die Registrierung solcher Reflexe nahe dem Primärstrahl ($2 \theta = 0^\circ$) ist mit einem normalen Goniometer nicht möglich, sondern nur bei Verwendung von Kleinwinkel-Meßeinrichtungen, z.B. einer sog. Kratky-Kamera (179,180).

Röntgenkleinwinkelaufnahmen* (Untersuchungsbereich: $< 3^{\circ}$) der gesprühten, gemahlene Substanz zeigen einen Peak bei einem Beugungswinkel 2θ von $0,256^{\circ}$, dem sich ein Ebenenabstand** d von $346 \text{ \AA}$ nach Gleichung 8 zuordnen läßt.

Durch diese Resultate konnte der Nachweis erbracht werden, daß durch mechanische Energiezufuhr im amorphen Digoxin mehr oder weniger ausgeprägte geordnete Bereiche, d.h. eine parakristallin-amorphe Zweiphasenstruktur entsteht. Die nach unterschiedlichen Methoden (REM, Röntgenkleinwinkelanalyse) ermittelten Werte für den Ebenenabstand sind gut miteinander korrelierbar.

Da nach den beschriebenen Untersuchungen aus dem amorphen sprühgetrockneten Material nicht direkt die kristalline Form bei mechanischer Energiezufuhr gebildet wird, sondern zunächst die parakristallinen Ordnungszustände entstehen, ist ein tribomechanisches Gleichgewicht zwischen amorpher und kristalliner Form des Digoxins unter den gewählten Versuchsbedingungen nicht nachweisbar.

Amorphe Ausgangssubstanz und gemahlene Produkte weisen einen unterschiedlichen Energiegehalt auf, was u.a. am Auflöseverhalten erkenntlich ist. Daher sollten sich diese Substanzen auch bei der thermoanalytischen Untersuchung voneinander unterscheiden lassen.

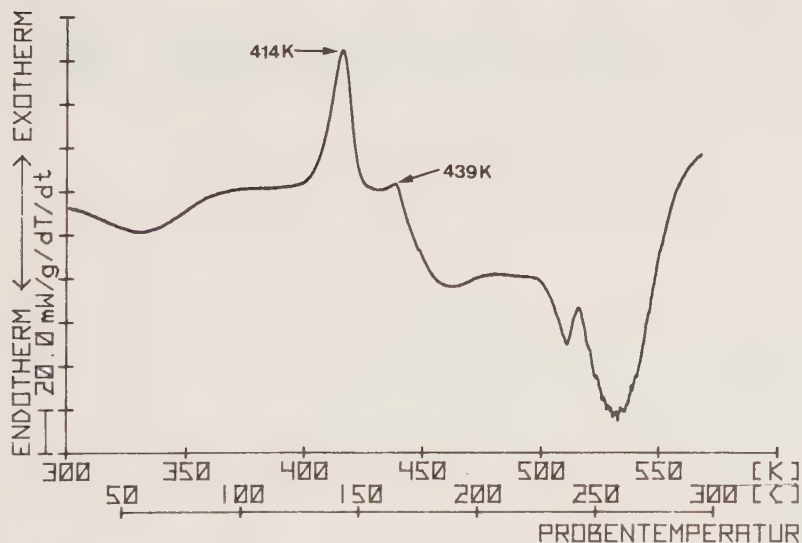
*An dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. C. FÜHRER, Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie der Technischen Universität Braunschweig, für die Möglichkeit der Anfertigung von Kleinwinkelaufnahmen gedankt.

**Es wurde auf den Term Netzebenenabstand verzichtet, weil bei allen untersuchten Proben offensichtlich keine Kristalle im üblichen Sinn gebildet werden (dreidimensionales Gitter).

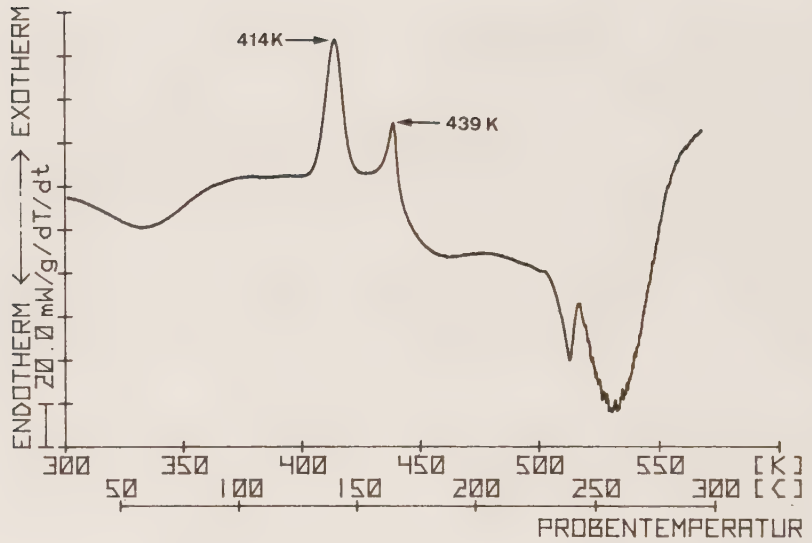
2.4.4.2.1 Thermoanalytische Untersuchungen

Die Abbildungen 42a, b, c, geben die mit konstanter Aufheizrate von 5 K/min. ermittelten DTA-Kurven der verschieden lang gemahlenen, gesprühten Substanzen wieder. Bereits nach 2 Minuten werden deutliche Veränderungen im Thermogramm sichtbar (Abbildung 43).

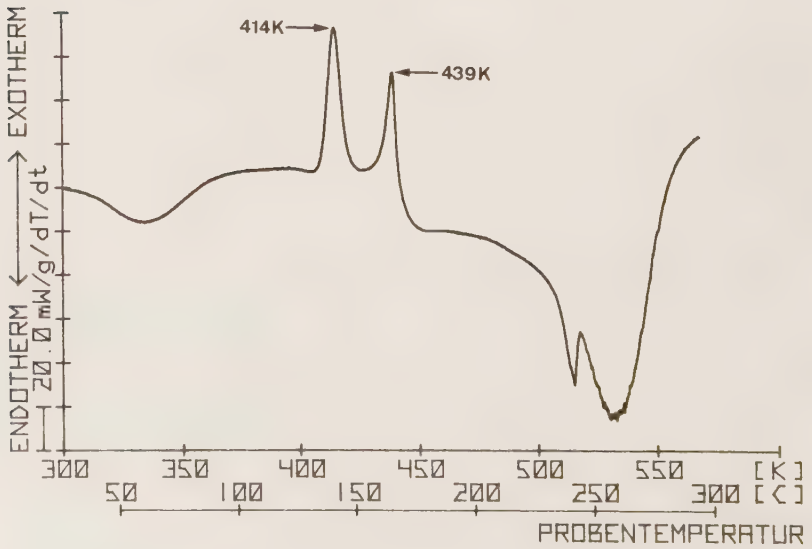
Abb. 42 DTA-Kurve von gesprüht, gemahlenem Digoxin
(5 K/min., N_2 : 25 ml/min.) - Produkt I -



a) Mahldauer: 2 Minuten



b) Mahldauer: 10 Minuten



c) Mahldauer: 20 Minuten

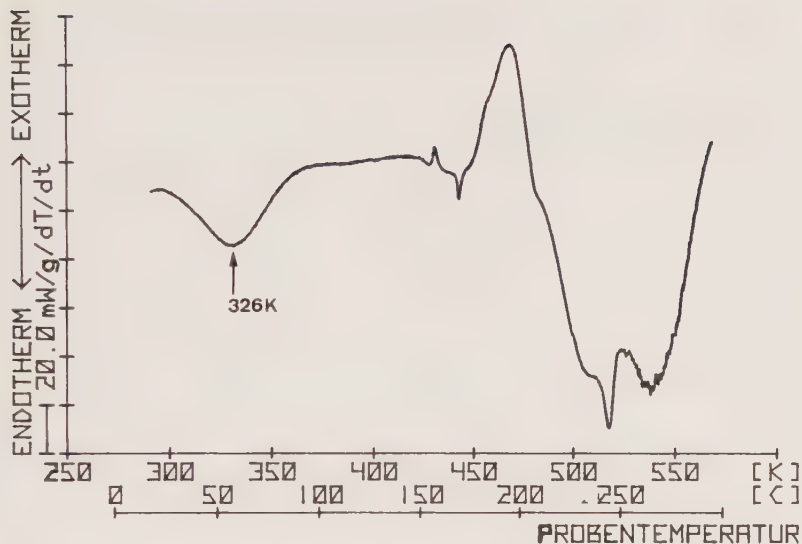


Abb. 43 DTA-Kurve von gesprühtem Digoxin (5 K/min.,
 N_2 : 25 ml/min., nicht identisch mit Produkt
 aus Abbildung 27)

Das Maximum des endothermen Peaks bei 326 K (53 °C) beim gesprühten Digoxin verschiebt sich nach höheren Temperaturwerten; bei 414 K (141 °C) und 439 K (166 °C) sind exotherme Signale bei den gemahlten Substanzen nachweisbar. Bezüglich des Schmelz- bzw. Zersetzungsverhaltens bestehen keine prinzipiellen Unterschiede.

Als Hypothese kann eine zunächst stattfindende Phasenumwandlung des amorphen Anteils und anschließend eine solche der parakristallinen Form postuliert werden.

Tabelle 12 faßt die ermittelten Reaktionswärmen für den 1. und 2. exothermen Peak in Abhängigkeit von der Mahldauer zusammen.

Tabelle 12 Reaktionswärmen des 1. und 2. exothermen Peaks (gesprüht, gemörsertes Digoxin)

Mahldauer (min.)	1. Peak (414 K Reaktionswärme pro g Digoxin (J/G)	2. Peak Reaktionswärme pro g Digoxin (J/G)
2	42,29	0,6783
10	33,31	5,598
20	25,45	12,01
20 (nach 8-wöchiger Lagerung bei Raumtemperatur)	30,24	6,461

Vergleicht man die Reaktionswärmen mit der Dauer des Mahlprozesses, d.h. der Höhe der zugeführten mechanischen Energie, so lassen sich folgende lineare Beziehungen herstellen:

- Eine Abnahme der Enthalpiewerte des 1. exothermen Peaks bei 414 K bei längerer Energiezufuhr.
- Eine Zunahme der Enthalpiewerte des 2. exothermen Peaks bei 439 K bei längerer Mahldauer.

Die Abbildungen 44 und 45 geben diesen Sachverhalt graphisch wieder, außerdem sind die berechneten Geradengleichungen, Korrelationskoeffizienten und die mittels r-Test berechneten Konfidenzzahlen angegeben.

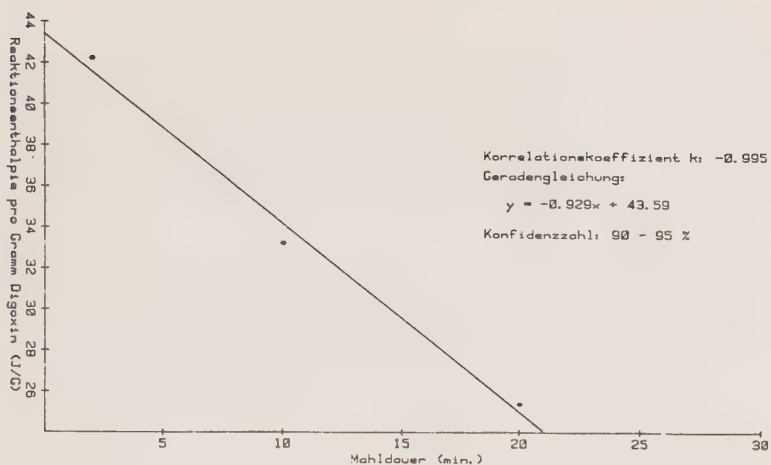


Abb. 44 Zusammenhang zwischen der Reaktionsenthalpie des 1. exothermen Peaks und der Mahldauer

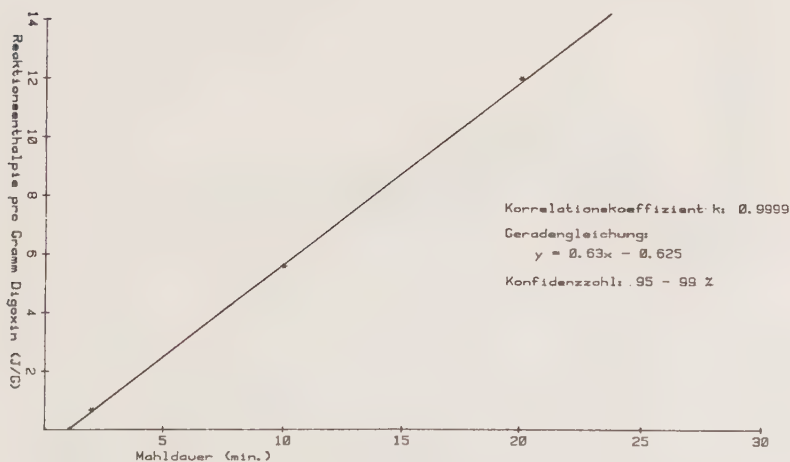


Abb. 45 Zusammenhang zwischen der Reaktionsenthalpie des 2. exothermen Peaks und der Mahldauer

Aus Tabelle 12 geht außerdem die physikalische Instabilität dieser gemahlenden Substanzen nach Lagerung hervor, wobei die Tatsache, daß sich der 2. exotherme Peak in den 1. exothermen umwandelt, zunächst nicht erklärbar ist. Dieses Phänomen kann erst bei der Diskussion aller Versuchsergebnisse (2.5) erörtert werden.

Nachdem durch die REM-Befunde das Auftreten parakristalliner Zustände erkannt wurde, mußten durch gezielte röntgendiffraktometrische Prüfungen bei höheren Temperaturen die in den DTA-Kurven sichtbaren Umwandlungen experimentell überprüft werden. Dabei zeigte sich, daß der Wirkstoff in Abhängigkeit von Höhe und Dauer der Temperaturbelastung in die kristalline Substanz umgewandelt wird (Abbildung 46).

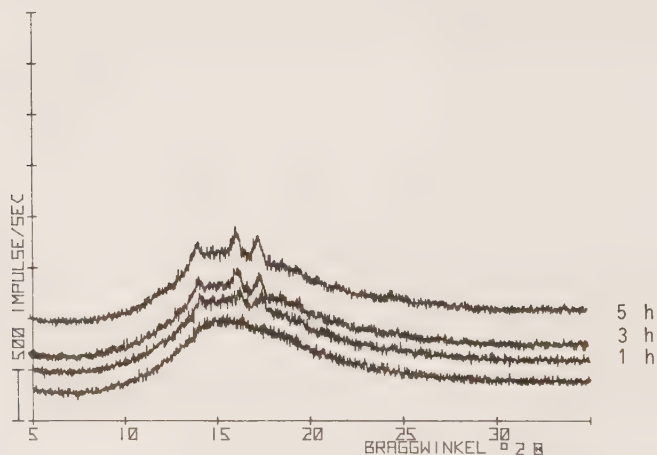


Abb. 46 Röntgendiffraktogramm bei 373 K (100 °C)

Bei 413 K (140 °C) erhält man das Interferenzmuster des kristallinen Digoxins (Abbildung 47), d.h. bereits der 1. exotherme Peak ist durch die Umwandlung der "amorphen" Form in das dreidimensionale Gitter (vgl. Abbildung 7) des kristallinen Digoxins bedingt. Wie ebenfalls aus Abbildung 47 ersichtlich, ändert sich bei 432 K (162 °C) (2. exothermer Peak) das aufgezeichnete Beugungsbild nicht.

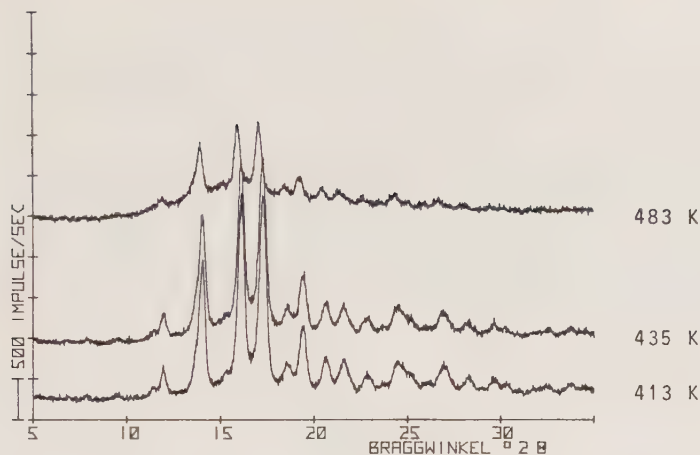


Abb. 47 Röntgendiffraktogramm bei höheren Temperaturen

Wie bereits erwähnt, erhält man zwar beim Versprühen einer Digoxin-Lösung immer eine röntgenamorphe Zustandsform, die jedoch Anteile mit mehr oder weniger stark ausgeprägter parakristalliner Ordnung enthalten kann (parakristallin-amorphe Zweiphasenstruktur). Daher ist es auch nicht verwunderlich, daß beim Vermahlen von gesprühtem Digoxin unterschiedlicher Chargen, Produkte entstehen, die bei der thermoanalytischen Untersuchung ein differierendes Verhalten zeigen.

So konnten neben den bereits beschriebenen Proben (= Produkt I, s. Abbildung 42) folgende gemahlene Sprühprodukte charakterisiert werden:

A) Produkt II (s. Abbildung 56)

Proben, die bei der DTA-Untersuchung im Vergleich zu Produkt I bezüglich der exothermen Signale identisch erscheinen. Diese Substanzen sind stabiler, d.h. sie zeigen keine Abnahme der Reaktionswärme des 2. exothermen Peaks bei Lagerung und weisen eine höhere Zersetzungstemperatur auf.

B) Produkt III (s. Abbildung 48)

Proben, die bei der DTA-Untersuchung nicht identisch mit Produkt I sind und einen ausgeprägten Rekristallisations-

peak bei 453 K (180 °C) aufweisen (Abbildung 48). Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen dieser gemahlten Substanz IIII (Abbildung 49) lassen zwar auch eine "scheibchenförmige" Ordnung im Amorphen erkennen, doch unterscheiden sich diese merklich von den lamellenförmig angeordneten Strukturen der Abbildung 4ld, e, f. Es liegen - im Vergleich zu Produkt I und II - wesentlich weniger geordnete Bezirke vor, weshalb sich die Substanz bei der DTA-Analyse wie der rein gesprühte Wirkstoff verhält (s. Abbildung 27).

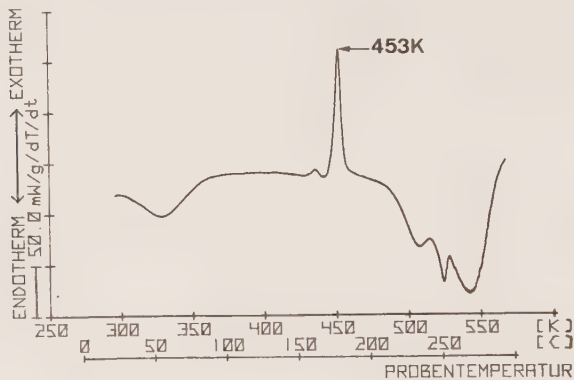


Abb. 48 DTA-Kurve von gesprüht, gemahlenem Digoxin
(5 K/min., N_2 : 25 ml/min., - Produkt IIII -)

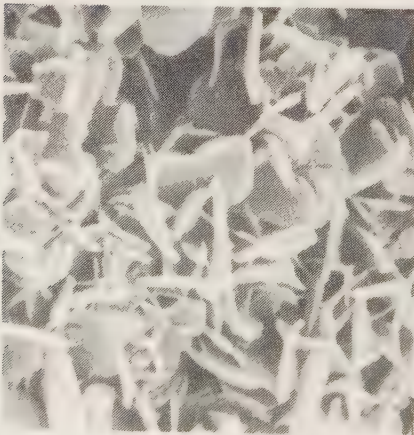


Abb. 49

REM-Aufnahme von Produkt IIII
Vergrößerung 3000x
Mahldauer: 20 Minuten
3,3 µm

2.5 Zusammenfassung und Diskussion der bisher ermittelten Versuchsergebnisse

Ausgehend von der Beobachtung, daß gesprühtes Digoxin- im Gegensatz zu vielen anderen Sprühprodukten -noch Jahre nach der Herstellung röntgenamorph vorliegt, konnte durch physikalische Untersuchung von amorphem Digoxin der Nachweis *p a r a k r i - s t a l l i n e r* fester - röntgenamorph erscheinender - Ordnungszustände des Wirkstoffes erbracht werden.

Abbildung 50 gibt die gefundenen Zustandsformen und Möglichkeiten der Darstellung bzw. Umwandlung der untersuchten Digoxin-Substanzen schematisch wieder.

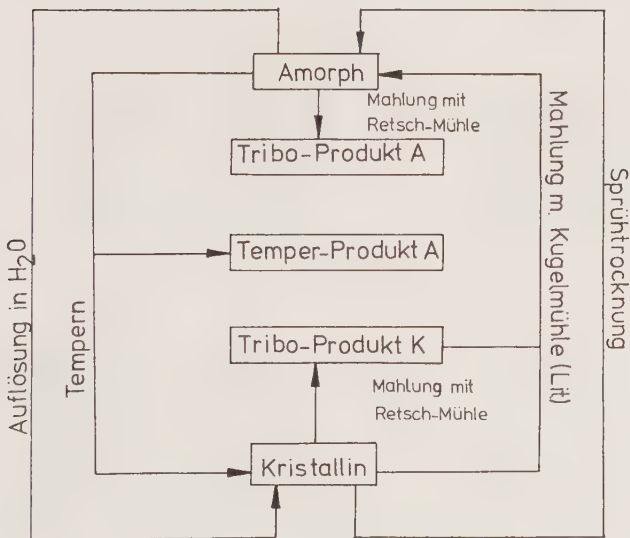


Abb. 50 Gefundene Zustandsformen des Digoxins

Tabelle 13

Zusammenfassung der bisher ermittelten Versuchsergebnisse von kristallinem, mikronisiertem (teilkristallinem) und amorphem Digoxin.

Untersuchungsmethode	Digoxin kristallin Ausgangsmaterial	Digoxin mikronisiert	Digoxin gesprüht	Digoxin gesprüht, gemahlen
Polarisationsmikroskop	anisotrop $d_{\max}$: 100 μm	anisotrop $d_{\min}$: 5 μm	isotrope Hohlkugeln, 5 μm	neben isotropen auch anisotrope Bezirke, Agglomerate
REM	tafelförmige Kristalle mit glatten Oberflächen	von amorphem Material "eingebettete" Kristallite	Mehrere Zustandsformen: 1) Nur glatte Hohlkugeln 2) Neben Hohlkugeln parakristalline Strukturen	Mehrere Zustandsformen: (Insgesamt 3 verschiedene Produkte) 1) Geordnete lamellenförmige Formen 2) Ungeordnete Scheibchen 3) Zwischenzustände Ebenenabstand d: Ca. 400 Å
In-vitro-Lösungsgeschwindigkeit (310 K, 37°C)	Sättigungskonzentration in Wasser bei Einsatz von 100 mg Wirkstoff: 3-4 mg/100 ml	Übersättigte, verhältnismäßig stabile Lösungen, Übersättigungsrate nach 20 min. korreliert mit K.L., max. 5-11 mg/100 ml	Zu Beginn der Inkubation hohe Übersättigungen (20mg%) jedoch rasche Konzentrationssenkung durch Rekristallisation des Wirkstoffs	Im Vergleich zum gesprühten Digoxin geringe Sättigungskonzentration (max. ca. 10 mg/100 ml), ebenfalls rasche Konzentrationssenkung durch Ausfällen von kristallinem Digoxin
IR	kristallin, charakteristische Banden bei 1800 und 3095 cm^{-1}	teilmorph	amorph, charakteristische Bande bei 1775 cm^{-1}	amorph

Untersuchungs- methode	Digoxin kristallin Ausgangsmaterial	Digoxin mikronisiert	Digoxin gesprüht	Digoxin gesprüht, gemahlen
Röntgenbeugungs- analyse				
a) Weitwinkel- aufnahme 2 θ =5-35°	charakteristische Beugungspeaks, we- gen Textur-Effekt kein Intensitäts- vergleich möglich	Zweiphasenstruktur amorph/kristallin identische Beugungs- muster im Vergleich zum krist. Digoxin	röntgenamorph	röntgenamorph
b) Kleinwinkel- aufnahmen < 3°	—	—	—	Peak bei 2 θ : 0,256°
c) Weitwinkel- aufnahmen bei höheren Temperaturen	—	—	ab 423 K Intensitäts- peaks der kristalli- nen Substanz bei 458 K; Kristallines Beugungsmuster	Produkt I: Ab 413 K (1. exothermer Peak) Röntgendiffraktogramm der kristallinen Substanz Produkt II: Wie I Produkt III: Ab 453 K Interferenzbild von kristallinem Digoxin
DTA	breites Schmelz- intervall, F _p : 501 K (Heizra- te 5 K/min.) Abhängigkeit von der Aufheizge- schwindigkeit	Depression des Schmelzpeaks auf 453 K, kleineres Schmelzintervall, durch längere Energiezufuhr: Exothermer Peak: 453 K, physikali- sche Veränderung der gelagerten Produkte	unterschiedliches Verhalten der einzel- nen Chargen. Meist: Ausgeprägter exother- mer Peak bei 433 K, mehr oder weniger ausgeprägte exother- me "Vorpeaks", endo- thermes Signal bei 323-343 K, differie- rende T _G -Werte	Produkt I: Zwei exotherme Peaks bei 414 und 434 K Produkt II: Wie I, nur stabiler Produkt III: Nur ein ausgeprägter Rekri- stallisationspeak bei 433 K, allen Produkten ist ein en- dothermes Signal bei 323- 343 K gemeinsam
HPLC	Keine Zersetzung: Alle Produkte sind identisch mit der kristallinen Ausgangssubstanz, geringe Verunreinigungen durch Digoxigenin und Digoxigenin- bis digitoxosid			

Dabei ist jedoch zu beachten, daß die Übergangsmöglichkeiten zwischen den einzelnen Produkten fließend sind, d.h. diskrete Ordnungszustände nicht unbedingt vorliegen. Dennoch ist eine Unterscheidungsmöglichkeit durch die vorgestellten Untersuchungsmethoden gegeben. Bemerkenswerterweise erwies sich im vorliegenden Fall die DTA gegenüber der Röntgenbeugungsanalyse als aussagekräftiger.

Tabelle 13 faßt die ermittelten physikalisch-chemischen Kenn-
daten der in diesem Kapitel beschriebenen Digoxin-Substanzen
zusammen.

D i s k u s s i o n

Unter Berücksichtigung der in Tabelle 13 wiedergegebenen Fakten lassen sich die bei verschiedenen präparierten Digoxin-Substanzen festgestellten Phänomene wie folgt erklären:

Bei mikronisiertem Digoxin wird die kristalline Gitterstruktur der Ausgangssubstanz durch Zufuhr mechanischer Energie schon nach kurzer Zeit weitgehend zerstört (Abnahme der K.I.-Werte). Es resultiert ein energiereicheres Produkt (Tribo-Produkt K), daher ist der Schmelzpeak in der DTA-Kurve nach tieferen Temperaturwerten verschoben (Abbildung 16a). Bei genügend großem Anteil der amorphen Phase rekristallisiert diese beim Aufheizen (exothermer Peak bei 453 K), es entsteht dabei eine energieärmere höher schmelzende Form (Abbildung 16a). Bei Lagerung wandelt sich die amorphe Phase unter Wegfall des exothermen Signals in eine parakristalline, die ebenfalls röntgenamorph ist, weshalb sich der K.I.-Wert nicht ändert. Dieser Zustand ist jedoch energiereicher als der kristalline, weshalb der Schmelzpeak erneut nach tieferen Temperaturen verschoben wird (Abbildung 16a). Einen Hinweis auf das Vorhandensein von geordneten Bezirken im Amorphen gibt auch der endotherme Peak bei 323 -

343 K (50 - 70 °C) der mikronisierten Proben, der einmal durch Desorption von unstöchiometrisch gebundenen Wassermolekülen (167), zum anderen aber auch durch eine Anordnung der Strukturen unter Energieverbrauch erklärt werden kann (siehe auch Abbildung 29a, b).

Durch Versprühen einer Digoxin-Lösung erhält man in allen Fällen einen röntgenamorphen Festzustand. Dieser kann jedoch als "parakristallin-amorphes Zweiphasen-System" vorliegen, da bei einigen der untersuchten Chargen des gesprühten Glykosids bereits unmittelbar nach der Herstellung geschichtet angeordnete, lamellenförmige Strukturen ausgebildet sind (Abbildung 37, Temper-Produkt A). Das differierende Mengenverhältnis an parakristalliner Form im Amorphen bedingt die unterschiedlichen DTA-Kurven bezüglich der Abnahme exothermer Signale in stärker parakristallinen Produkten.

Unterwirft man den röntgenamorphen Wirkstoff einem Mahlprozeß, so werden ebenfalls röntgenamorphe parakristalline Formen (Iribo-Produkt A) ausgebildet. Diese können vom Temper-Produkt A durch eine "höhere" Ordnung (Abbildung 41 im Vergleich zu Abbildung 32) unterschieden werden, worauf auch ein zusätzlich auftretendes zweites exothermes Signal in der DTA-Kurve hinweist. Somit könnte man die DTA-Kurve (s. Abbildung 42) dieser gemahlten Produkte wie folgt deuten: Bei 413 K (140 °C) findet eine Umwandlung amorph nach parakristallin, bei 434 K (160 °C) eine solche von parakristallin nach kristallin statt. Röntgendiffraktometrische Untersuchungen beweisen aber, daß bei beiden Temperaturen die kristalline Form des Digoxins entsteht.

Es ist bekannt, daß zum Starten einer Reaktion eine gewisse Aktivierungsenergie notwendig ist, diese aber u.U. bei energiereicheren Systemen höher sein kann, als bei energieärmeren (184). Postuliert man nun für beide röntgenamorphen Zustandsformen unterschiedliche Aktivierungsenergien derart, daß die parakristallinen Strukturen im Vergleich zu amorphen einen höheren Energiebetrag zur Kristallisation benötigen, dann lassen sich die DTA-Phänomene mit den röntgendiffraktometrischen Be-

funden korrelieren: Bei 413 K (140 °C) wandelt sich der energiereichere, amorphe Zustand, bei 434 K (160 °C) die energieärmere, parakristalline Struktur in die stabilste, d.h. kristalline Form des Wirkstoffes um. Für den endothermen Peak bei 343 K (70 °C) gelten die für mikronisiertes Digoxin gegebenen Deutungsmöglichkeiten: Wasserabgabe und partielle Bildung thermotroper parakristalliner Anordnungen.

Ein erschwerter Übergang von der parakristallinen in die kristalline Form des Glykosids könnte angesichts der erforderlichen Aktivierungsenergie als Grund für die – im Gegensatz zu anderen Sprühprodukten – beobachtete physikalische Stabilität des gesprühten Wirkstoffes anzusehen sein.

Bei Lagerung tribomechanisch behandelter röntgenamorpher Proben (8 Wochen bei Raumtemperatur) nimmt das zweite exotherme Signal zugunsten des ersten ab (s. Tabelle 12). Dabei wird offenbar die Anordnung der parakristallinen Form geändert und es entsteht ein anders geordnetes Produkt. Dieses wandelt sich bei der thermoanalytischen Untersuchung bereits bei niedrigeren Temperaturen (geringere Aktivierungsenergie) in die kristalline Form um. Abbildung 51 zeigt die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme des gelagerten Tribo-Produktes A.



Abb. 51

REM-Aufnahme von gesprüht, gemahlenen Digoxin (Abbildung 41d); 8 Wochen bei Raumtemperatur gelagert.

Vergrößerung: 1500x

6,6 μm $\longleftrightarrow$

Aus dieser Aufnahme kann man die geänderte Ordnung im Vergleich zur Abbildung 4ld erkennen, so daß eine intermediär, d.h. bei Lagerung aus dem Tribo-Produkt A entstehende parakristalline Form B diskutiert werden kann. Derartige, thermodynamisch instabile Formen sind in der Literatur z.B. für anorganische Fluor-Komplexe beschrieben und als "Hochdruck-Abschreckphasen" bezeichnet worden (102)*. Abbildung 52 gibt den diskutierten Sachverhalt nochmals schematisch wieder und zeigt die Darstellungs- und Umwandlungsmöglichkeiten der einzelnen Phasen:

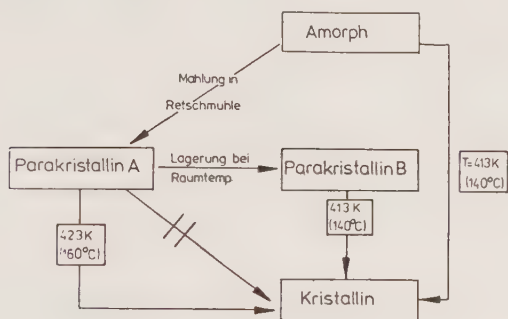


Abb. 52 Umwandlungsschema von amorphem und parakristallinem Digoxin

Durch den Nachweis aller beschriebenen Zustandsformen des Glykosids (Abbildung 50) ist nun eine Deutung der am Anfang dieses Kapitels beschriebenen Phänomene im Schmelz- und Auflösungsverhalten möglich:

Je geringer die Anzahl der Gitterstörungen im Digoxin-Kristall ist, desto physikalisch stabiler ist der Wirkstoff, d.h. desto höher ist auch der Schmelzpunkt.

*An dieser Stelle sei Herrn Prof. Dr. H.P. BECK, Institut für Anorganische Chemie der Universität Erlangen-Nürnberg, für seine Diskussionsbereitschaft gedankt.

Die Auflösung eines Wirkstoffs findet bevorzugt an den Störstellen der Gitterstruktur eines Kristalles statt. Daher zeigt die gesprühte Substanz aufgrund des amorphen Festzustandes (maximale Störung) die größte Lösungsgeschwindigkeit in wässriger Lösung. Infolge einer großen Rekristallisationsneigung kommt es jedoch zu einer raschen Konzentrationssenkung. Dem gegenüber verhalten sich mikronisierte Proben anders, indem sie zwar weniger hoch, aber stabilere übersättigte Lösungen ergeben.

Unter Berücksichtigung der ermittelten Versuchsergebnisse und Erklärungsmöglichkeiten lassen sich die im Folgenden aufgeführten sieben Aussagen zusammenstellen:

- 1) Verschiedene polymorphe Kristallmodifikationen des Glykosids konnten nicht nachgewiesen werden.
- 2) Solvate bzw. Hydrate werden nicht gebildet, amorphes Digoxin vermag Wasser - allerdings nicht stöchiometrisch - zu binden.
- 3) Verunreinigungen des Wirkstoffes (Nebenglykoside und Abbauprodukte) haben auf das physikalische Verhalten nur einen geringen Einfluß.
- 4) Für die physikalischen Eigenschaften des Wirkstoffs sind Gitterstörungen - hauptsächlich 2. Art - verantwortlich.
- 5) Bei tribomechanisch behandelten röntgenamorphen Substanzen treten geschichtet angeordnete, lamellenförmige Strukturen auf.
- 6) Diese, als parakristallin bezeichneten Zustände, weisen einen unterschiedlichen Ordnungsgrad auf.
- 7) Parakristalline Formen des Digoxins können sowohl thermotrop als auch gemäß 5 "tribotrop" aus dem röntgenamorphen Sprühprodukt gewonnen werden.

Somit ergibt sich, daß von den fünf aufgestellten Arbeitshypothesen, die Zweite (Kristall-Defekte) alle beschriebenen "Wirkstoff-Anomalien" zu erklären vermag.

2.5.1 Praktische Relevanz der ermittelten Versuchsdaten

Die Tatsache des Auftretens von verschiedenen Ordnungszuständen beim Digoxin können folgende galenisch und biopharmazeutisch relevante Auswirkungen haben:

- Werden unterschiedliche Lösungsmittel bei der Kristallisation des Glykosids verwendet, so können Produkte entstehen, die in Abhängigkeit von der Anzahl der Gitterstörungen hinsichtlich Stabilität und In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeit differieren.
- Durch mechanische Energiezufuhr bei Vermahlung bzw. Verpressung* oder bei thermischer Belastung können die beschriebenen Ordnungszustände des Wirkstoffs entstehen. Dadurch ändern sich die physikalischen Eigenschaften des Glykosids, insbesondere sein Auflösungsverhalten.

Da jedoch einer der wichtigsten Parameter für die Resorption eines Wirkstoffes sein In-vitro-Lösungsverhalten ist, soll im nächsten Kapitel die Natur der Gitterstörungen näher charakterisiert werden.

*Orientierende Vorversuche zeigten kaum Änderungen in den DTA-Kurven von verpreßtem, gesprühtem Digoxin. Diese Problematik wird im Rahmen einer gesonderten Dissertation (188) von unserem Arbeitskreis bearbeitet.

3. Das parakristalline Digoxin

Bislang wurden die beschriebenen Ordnungszustände, die z.T. als parallel geschichtete Strukturen (Abbildung 41) im REM nachweisbar sind, als parakristallin bezeichnet. Dieser in der Literatur gebräuchliche Begriff (189) sollte im vorliegenden Fall die Beobachtung umschreiben, daß Digoxin zusätzlich zur anisotropen kristallinen und isotropen amorphen Form in einen bisher nicht für diesen Wirkstoff beschriebenen Ordnungszustand überführt werden kann. Der zwischen diesen beiden einzuordnende Zustand kann durch die in der Tabelle 14 wiedergegebenen Daten charakterisiert werden:

Tabelle 14 Ermittelte Daten des parakristallinen Digoxins

Untersuchungsmethode	B e f u n d e
Polarisationsmikroskop	anisotrope Bezirke
Heizeinrichtung	bei 323 K (50 °C) fadenförmige Anordnung, ab 353 K (80 °C) Zusammenlagerung
Röntgenbeugung	
a) Weitwinkel	röntgenamorph, d.h. nur eine Nahordnung aufweisendes "Halo"
b) Kleinwinkel	Peak bei 2θ von $0,256^\circ$, $d = 346 \text{ \AA}$
IR	IR-amorph
REM	teilweise parallel geschichtet, ansonsten ungeordnete "Scheibchen", d : ca. $400 \text{ \AA}$

In der Literatur über amorphe, pharmazeutisch verwendete Wirkstoffe findet man keinen Hinweis auf einen Stoffzustand, der durch die in dieser Tabelle zusammengefaßten Phänomene gekennzeichnet ist. Überraschenderweise läßt sich jedoch eine Korrelation mit Beobachtungen an makromolekularen Verbindungen her-

stellen (189). Bei Hochpolymeren hat man im festen Zustand z. B. strukturelle Ordnungen gefunden, die dem flüssig-kristallinen* Zustand zugeordnet werden (172,173,181,189,190,191). Sie treten entweder neben kristallinen Bereichen auf und werden dann als Kristallstörungen interpretiert, oder befinden sich neben glasartig-amorphen Gebieten und werden nach KAST (192) als eingefrorene mesomorphe Flüssigkeitsstrukturen aufgefaßt. In Anlehnung an diese Beobachtungen soll die Frage erörtert werden, ob die beim Digoxin nachgewiesenen parakristallinen Strukturen ein den flüssig-kristallinen Stoffzuständen vergleichbares Verhalten zeigen.

3.1 Der flüssig-kristalline Stoffzustand

Über Strukturen, Theorien und Eigenschaften von Flüssigkristallen sind zahlreiche Publikationen erschienen, daher sei an dieser Stelle nur auf Übersichtsartikel bzw. Fachbücher verwiesen, in denen die einschlägige Spezialliteratur referiert wird (193,194,195,196,197,198,199,200).

Flüssig-kristalline Phasen erhält man beim Schmelzen vieler organischer Substanzen, bevor bei weiterer Energiezufuhr die Umwandlung in die isotrope Flüssigkeit stattfindet. Es handelt sich dabei um Zustände, die einerseits in vielen Eigenschaften stark anisotrop sind, andererseits aber ebenso beweglich sein können wie Wasser. Es gibt auch flüssig-kristalline Stoffzustände mit hoher Viskosität und kristallähnlichem Habitus sowie glasartige Varianten (201). Die Gesamtheit dieser Zustände wird in der Literatur in zwei Gruppen eingeteilt und als *t h e r m o t r o p* und *l y o t r o p* bezeichnet.

*Die Synonyme kristallin-flüssig, anisotrop oder mesomorph flüssig sowie Mesophasen werden ebenfalls zur Kennzeichnung solcher Stoffzustände benutzt.

Während erstere ihre Ordnung temperaturabhängig ändern, benötigen lyotrope Phasen hierfür Lösungsmittelmoleküle.

3.2 Polymorphie flüssig-kristalliner Phasen

Bei der Beobachtung der kristallin-flüssigen Zustände mit Hilfe eines Polarisationsheiztischmikroskopes erhält man auf Grund einer ausgeprägten Parallelität der Moleküllängsachsen charakteristische Bilder, sog. *T e x t u r e n* (208). FRIEDEL (202) unterschied dabei zwischen nematischen, cholesterinischen und smektischen Phasen, die nebeneinander an ein und derselben Verbindung auftreten können (203), so daß in diesen Fällen Polymorphie vorliegt. Nachfolgende Untersuchungen (201) zeigten, daß der smektische Zustand durch mindestens fünf Varianten gekennzeichnet ist.

3.3 Charakterisierung flüssig-kristalliner Phasen

Die Struktur flüssig-kristalliner Phasen kann u.a. durch röntgendiffraktometrische Untersuchungen gekennzeichnet werden. Dabei ergibt sich folgendes Bild:

- Nematische und cholesterinische Phasen sind wie isotrope Flüssigkeiten durch ein "Halo" gekennzeichnet.
- Smeaktische Zustände zeigen bei großen Beugungswinkeln ($2\theta > 5^\circ$) einen mehr oder weniger diffusen Reflex, bei kleinen Winkeln ($2\theta < 3^\circ$) erhält man einen scharfen Peak.

Neben dieser Methode werden vor allem die Polarisations- sowie Rasterelektronenmikroskopie und die DTA zur Kennzeichnung mesomorpher Phasen benutzt (204).

3.4 Spezielle Untersuchungen am Digoxin

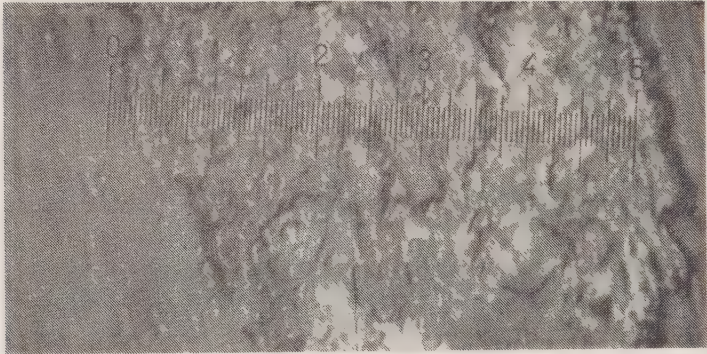
3.4.1 RD-REM-Untersuchungen

Wie aus Tabelle 14 zu entnehmen ist, zeigt parakristallines Digoxin ein den flüssigen Kristallen vergleichbares Verhalten bei der röntgendiffraktometrischen Untersuchung. Die raster-elektronenmikroskopischen Aufnahmen von tribomechanisch behandelten bzw. getemperten amorphen Proben weisen einachsigscheibchenförmige Strukturen auf, die sich zusammenlagern und daher eine zweidimensionale Anordnung ergeben. Somit können sie in Analogie zu den Beobachtungen von KAST bei hochpolymeren Feststoffen auch als mesomorphe Flüssigkeitsstrukturen aufgefaßt werden. Durch polarisationsmikroskopische Untersuchung soll versucht werden, diese Befunde zu bestätigen und darüber hinaus zu überprüfen, ob es ebenso möglich ist, aus kristallinem bzw. teilkristallinem Material solche Phasen herzustellen. BERNAL und CRAWFOOT hatten Kristallstörungen im festen Zustand niedermolekularer Verbindungen (p-Azoxyanisol) den kristallin-flüssigen Zuständen zuordnen können (205).

3.4.2 Polarisationsmikroskopische Untersuchungen

Die im folgenden wiedergegebenen polarisationsmikroskopischen Aufnahmen wurden mit kristallinem, teilkristallinem und amorphem Digoxin hergestellt. Dabei zeigten alle Formen identische Phänomene:

Im polarisierten Licht erscheinen durch kreisende Bewegung des Deckglases auf dem Objektträger hergestellte, d.h. nicht orientierte, dünne Schichten von Digoxin-Proben anisotrop und zeigen neben schlierenförmigen auch stufenartig geschichtete Anordnungen (Abbildung 53).

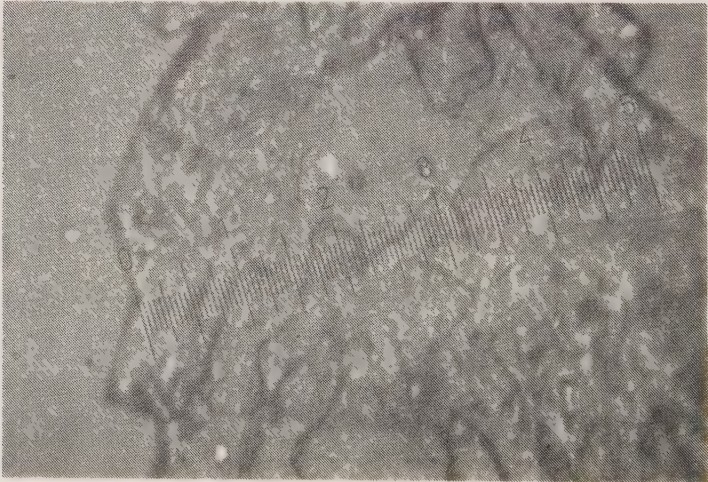


20 µm —→

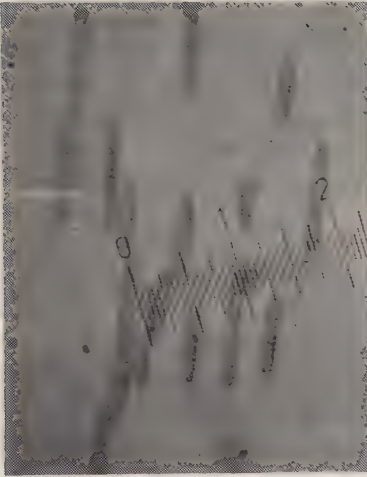
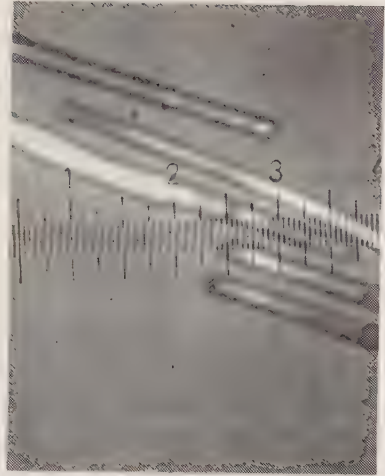
Abb. 53 Polarisationsmikroskopische Aufnahme von nichtorientierten, dünnen Digoxin-Proben

Durch definiertes Reiben des Deckglases in einer Richtung (206) erhält man homogene Schichten mit einheitlicher Orientierung in der ganzen Ausdehnung, wobei die optische Achse parallel zur Schichtebene steht: Neben mosaikartigen Strukturen (Abbildung 54a) entstehen beim Reiben typisch angeordnete fadenförmige "Würmer" (Abbildung 54b, c).

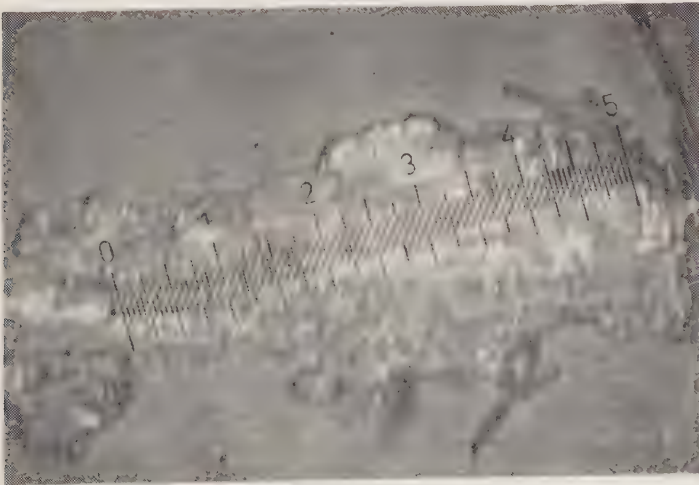
Abb. 54 Polarisationsmikroskopische Aufnahmen von orientierten, dünnen Digoxin-Proben



a) 20 µm —→

b) 15 μm —c) 20 μm —

Die Abbildung 54d gibt einen Zwischenzustand wieder, wo sich die fadenförmigen Strukturen von zusammengelagerten Schichten lösen.

d) 20 μm —

Demnach kann man auch durch Betrachtung dünner Wirkstoffschichten im Polarisationsmikroskop Hinweise auf einen Zustand erhalten, der ein in der Literatur für Flüssigkristalle beschriebenes Verhalten aufweist. Dabei ist eine Unterscheidung zwischen verschiedenen Formen möglich (Abbildung 54).

3.4.3 DTA-Untersuchungen

Wie bereits erwähnt und in Abbildung 55 nochmals wiedergegeben, ist die DTA-Kurve von tribomechanisch behandelten amorphen Produkten neben zwei exothermen Peaks durch ein endothermes Signal im Bereich von 313 K (40 °C) bis 373 K (100 °C) gekennzeichnet.

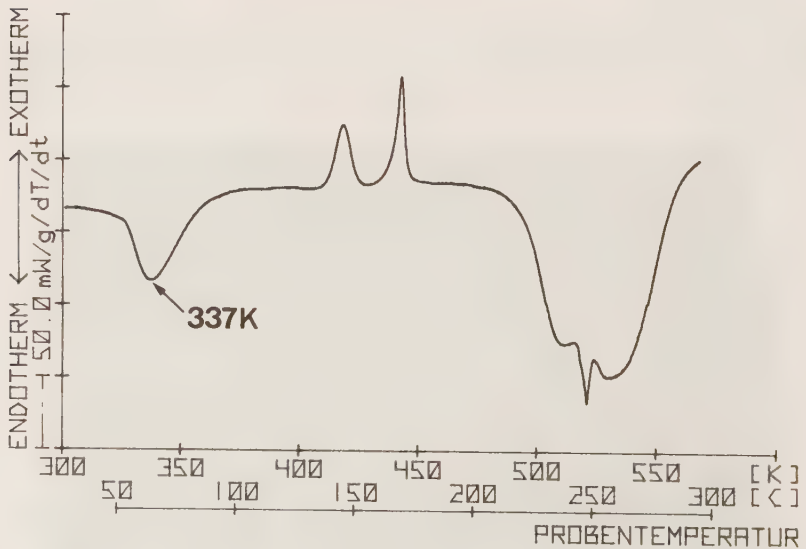
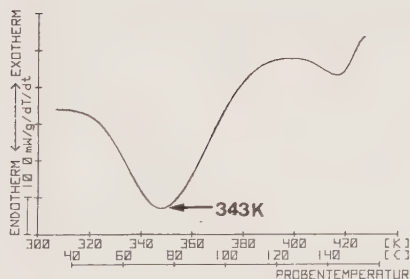


Abb. 55 DTA-Kurve von gesprüht, gemahlenem (40 min.)
Digoxin (5 K/min., N_2 : 25 ml/min. - Produkt II -)

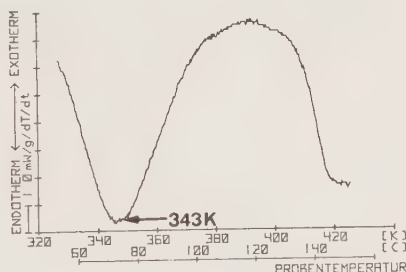
Wird diese Substanz zweimal hintereinander mit 15 K/min. von 283 K (10 °C) bis 428 K (155 °C) in der DTA aufgeheizt, wobei die Probe jeweils mittels einer Kühleinrichtung innerhalb einer Minute wieder auf 283 K (10 °C) gekühlt wird, so ergibt sich folgendes Bild:

Abbildung 56a zeigt die 1. Aufheizkurve, die ein deutlich ausgeprägtes endothermes Signal, das durch sorbiertes Wasser verursacht sein könnte, erkennen läßt. Beim 2. Aufheizen (Abbildung 56b) tritt wiederum bei gleicher Temperatur (343 K) ein schwächer ausgeprägter endothermer Peak auf, der nicht auf einen Wasserverlust zurückgeführt werden kann.

Abb. 56 DTA-Kurve von Produkt II
Heizrate: 15 K/min., N₂: 25 ml/min.



a) 1. Aufheizkurve

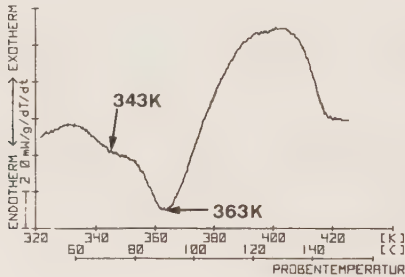


b) 2. Aufheizkurve

An dieser Stelle sei auf polarisationsmikroskopische Untersuchungen des rein gesprühten Digoxins bei Temperaturen von 323 - 373 K verwiesen, die das Vorliegen thermotrop induzierter parakristalliner Ordnungen aufzeigten (s. Abbildung 29a, b). Daher kann angenommen werden, daß das endotherme Signal bei den gemahlenden Sprühprodukten ebenfalls auf eine unter Energieverbrauch ablaufende Ausbildung solcher Strukturen zurückzuführen ist. Auf das Vorhandensein mehrerer Ordnungszustände bei diesen Substanzen deutet auch folgendes Phänomen:

Kühlt man die Probe auf 273 K (0 °C) ab und lagert sie bei

dieser Temperatur mehrere Stunden, so erhält man beim erneuten Aufheizen (3. Aufheizkurve) eine im Vergleich zu Abbildung 56b veränderte Kurve. Der endotherme Peak ist jetzt durch eine Schulter bei 343 K (70 °C) und ein Maximum bei 363 K (90 °C) gekennzeichnet (Abbildung 56c).



c) 3. Aufheizkurve

Offensichtlich entsteht unter den gewählten Bedingungen eine "Tieftemperatur-Phase", die als Ursache für diese Veränderung angesehen werden kann.

3.4.4 Zusammenfassung

Durch verschiedene physikalische Untersuchungsmethoden konnte der Nachweis erbracht werden, daß der parakristalline Stoffzustand des Digoxins ein Verhalten aufweist, das mit dem, in der Literatur für flüssig-kristalline Phasen beschriebenen, vergleichbar ist. DTA- und polarisationsmikroskopische Untersuchungen weisen auf das Vorhandensein mehrerer dieser Phasen beim Digoxin hin. Überraschenderweise sind diese Strukturen nicht nur im amorphen nachweisbar, sondern ebenfalls aus kristallinem Glykosid zugänglich. Es kann daher angenommen werden, daß formanisotrope Moleküle bereits im Digoxin-Kristall eine gewisse Freiheit der Lage zueinander haben.

4. Digoxin-Sprüheinbettung

4.1 Auswahl der Hilfsstoffe

In vielen Fällen geht die Resorption von schwerlöslichen Arzneistoffen (Löslichkeit unter 0,3 %) schneller vonstatten, als deren Auflösung in der Gastrointestinalflüssigkeit, d.h. die Auflösung des Wirkstoffes ist der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der Resorption (209). Daher ist zu erwarten, daß alle Maßnahmen, die eine Verbesserung dieses Parameters zur Folge haben, auch mit einer Erhöhung der Bioverfügbarkeit einhergehen.

Bei vielen der unter 1.2 vorgestellten Möglichkeiten zur Verbesserung der Resorptionsquote des Digoxins kann angenommen werden, daß auf Grund des Herstellungsprozesses (z.B. Mahlung des Wirkstoffs oder Abdampfen von Lösungsmittel) parakristalline Formen des Glykosids vorliegen. Diese besitzen zwar zunächst im Vergleich zum kristallinen Wirkstoff eine erhöhte Auflösungsgeschwindigkeit und höhere Sättigungskonzentrationen, infolge ihrer Instabilität (Veränderung bei Lagerung) aber muß die vorteilhafte Eignung bei der Formulierung von galenischen Zubereitungen angezweifelt werden.

Von den bisher hergestellten Digoxin-Proben zeichnete sich das gesprühte, röntgenamorphe Produkt durch die höchste Auflösungsrate und eine Übersättigungsquote von 9,8 (bestimmt zum Zeitpunkt maximaler Konzentration) aus. Wegen der großen Rekristallisationsneigung in wässriger Lösung und der in unterschiedlicher Menge möglichen Bildung von parakristallinen Formen bereits während des Sprühprozesses, ist jedoch solch ein Produkt für die Entwicklung einer Arzneiform ebenfalls problematisch.

Sollte es aber gelingen, die Rekristallisation des Wirkstoffs aus einer übersättigten wässrigen Digoxin-Lösung zu inhibieren, dann müßten die dabei erhaltenen Systeme durch eine erhöhte Resorptionsgeschwindigkeit gekennzeichnet sein. Ebenso ist es

notwendig, den Ordnungszustand fester Präparationen auch bei Lagerung zu stabilisieren, damit günstige Anfangsbedingungen nicht zeitabhängig abnehmen.

Nach STRICKER (210) ist die Geschwindigkeit des Kristallwachstums von den in der Gleichung 9 wiedergegebenen Faktoren abhängig:

$$\frac{dM}{dt} = k_{kr} \cdot (c - c_s) \cdot F \quad (\text{Gl. 9})$$

M = kristallisierte Menge

F = Kristalloberfläche

k_{kr} = Wachstumsgeschwindigkeitskonstante

c_s = Sättigungskonzentration

c = Übersättigungskonzentration

Die Wachstumskonstante k_{kr} läßt sich durch folgenden Ausdruck beschreiben:

$$k_{kr} = \left(\frac{1}{k_d} + \frac{1}{k_r} \right)^{-1} \quad (\text{Gl. 10})$$

k_d = Diffusionsgeschwindigkeitskonstante

k_r = Reaktionsgeschwindigkeitskonstante

Sie ist umso kleiner, je kleiner die Oberflächenspannung und je größer die Viskosität des Dispersionsmittels ist. Daher sind in der Literatur als Kristallisationsverzögerer Hydrokolloide wie Polyvinylpyrrolidon (PVP) (217,218,219,220), Methylcellulose (MC) (218,129), Carboxymethylcellulose (217,19), Alginate (218), Gummi arabicum (217) oder Tenside wie Natriumdioctylsulfosuccinat (217) beschrieben.

NÜRNBERG konnte durch gemeinsames Versprühen einer Digitoxin-MC-Lösung das Glykosid in eine feste Zustandsform überführen,

die beim Auflösen in Wasser stabile übersättigte Lösungen ergab (116). KOHL gelang durch Verwendung dieses Makromoleküls die Inhibierung des Kristallwachstums von Steroiden in Cremes (221). Ähnliche Beobachtungen veröffentlichten auch KÜGEL und HORSCH (222).

Das günstige Lösungsverhalten von Digoxin-Sprüheinbettungen in MC vom Typ des Viskontran K 11 wurde bereits von unserem Arbeitskreis vorgestellt (72). Es mußte nun untersucht werden, ob die Verwendung anderer Celluloseether-Typen bzw. anderer makromolekularer Hilfsstoffe eine Verbesserung von Lösungsgeschwindigkeit und Sättigungskonzentration des Digoxins bewirken können.

Vor Beginn der Herstellung der Einbettungen mußte zunächst geklärt werden, ob eine Wechselwirkung zwischen Wirkstoff und Kolloid stattfindet. Derartige für makromolekulare Substanzen in der Literatur (211,212,213,214,215,216) beschriebene Interaktionen können erhebliche Auswirkungen auf die Resorption des Glykosids haben.

Die Untersuchung erfolgte nach dem Prinzip der Gleichgewichtsdialyse in einer von GERST (123) beschriebenen dreiteiligen Dialysierkammer (Bedingung siehe Anhang). Nach einer Dialysierzeit von 72 h bei $310 \pm 0,1$ K konnte in allen Fällen eine äquivalente Verteilung des Wirkstoffs in den Kammern spektralphotometrisch nachgewiesen werden, so daß assoziative oder sorptive Wechselwirkungen ausgeschlossen werden konnten.

4.2 Abhängigkeit des In-vitro-Freisetzungsvhaltens vom Celluloseether-Typ

Für die Digoxin-Einbettungen wurden die in Tabelle 15 wiedergegebenen Celluloseether-Typen (Durchschnittssubstitutionsgrad DS von ca. 2) verwendet.

Tabelle 15 Verwendete Celluloseether-Typen

Celluloseether	Hersteller	MG	Viskosität mPa · s	Viskositäts- bereich
MC K 11 Viskontran *	Henkel	10000-15000	9,1	---
MC 25 S Culminal	Henkel	---	---	25 - 55 (dest. Wasser)
Methocel A 15	DOW	13000	15	13 - 18
Methocel A 4 C	DOW	41000	400	350-550
Methocel E 5	DOW	---	5	---
Methocel E 15	DOW	---	15	13 - 18
Methocel E 50	DOW	---	50	40 - 60

* Außer Handel

Methocel A = Methylcellulose (MC)

Methocel E = Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC)

Die Darstellung der im folgenden beschriebenen Präparate erfolgte durch Versprühen des Wirkstoffs in Anwesenheit der Kolloide aus Chloroform-methanolischer Lösung (7:3) (Sprühbedingungen siehe Tabelle 9). Die röntgendiffraktometrische Untersuchung zeigte erwartungsgemäß in allen Fällen keine für kristallines Digoxin typischen Peaks. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen bestätigten die Abwesenheit kristalliner Partikel (Abbildung 57).

Die Abbildungen 58a, 58b und 59 zeigen die Lösungsgeschwindigkeitskurven der verschiedenen Produkte (Bedingungen wie 2.4.2.6, wirkstoffbezogene Einwaage: 100 mg).

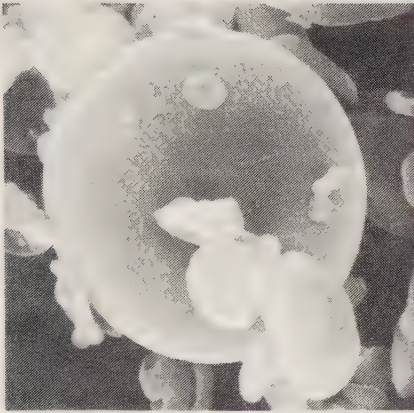


Abb. 57

REM-Aufnahme; Digoxin-MC A 15 1:1;
 gesprüht aus $\text{CHCl}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ 7:3
 Vergrößerung: 2500x

4 μm 

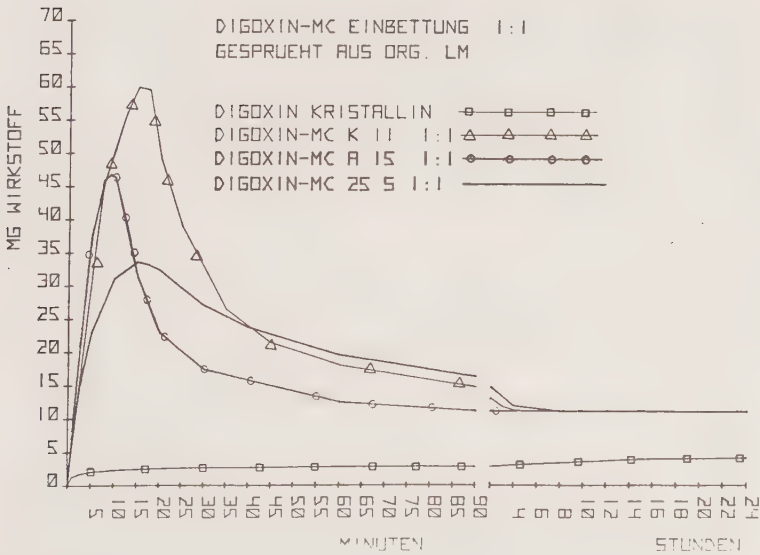


Abb. 58a Auflösungsprofile verschiedener 50proz.
 Digoxin-MC-Einbettungen

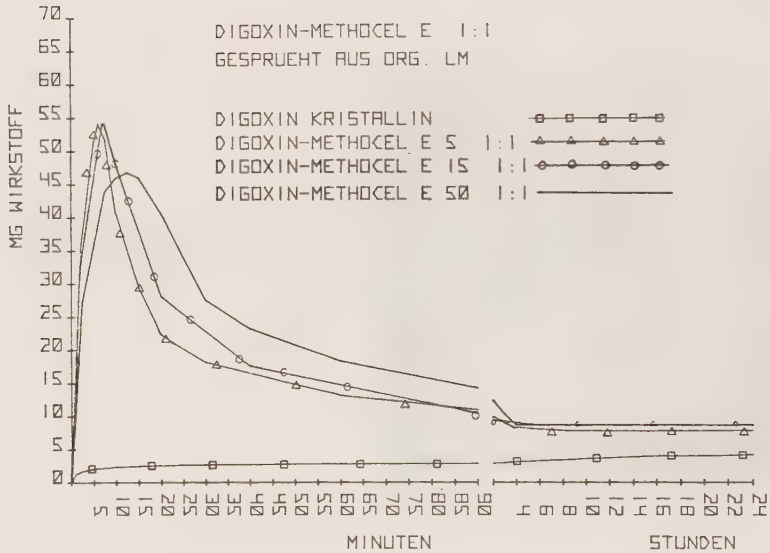


Abb. 58b Auflösungsprofile verschiedener 50proz.
Digoxin-HPMC-Einbettungen

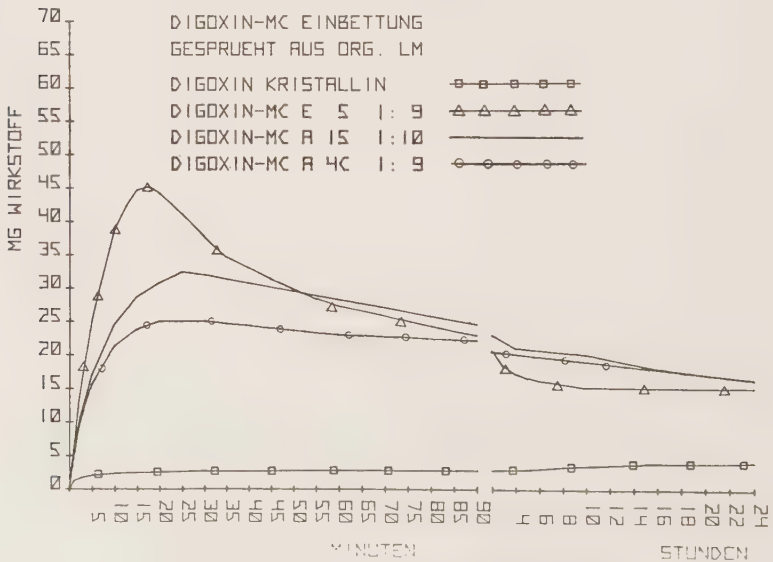


Abb. 59 Löslichkeit von Digoxin-Sprüheinbettungen in
Abhängigkeit vom Molekulargewicht des verwen-
deten Makromoleküls.

Man erkennt, daß alle Celluloseether-Sprüheinbettungen des Digoxins beim Auflösen stark übersättigte Lösungen ergeben, die zum Teil eine außergewöhnlich hohe Anfangskonzentration - insbesondere gegenüber rein gesprühtem Wirkstoff (2.4.3) - aufweisen. Die Konzentrationssenkung während der Inkubation ist auf eine Auskristallisation des Wirkstoffes zurückzuführen. Bemerkenswerterweise findet jedoch dabei keine merkliche Zunahme der Partikelgröße statt ($\bar{d}_{\max} = 5 \mu\text{m}$).

Dem verwendeten Celluloseether kommt also auf Grund der beschriebenen Versuche in allen Fällen eine kristallisationshemmende Funktion zu. Ein lösungsvermittelnder Effekt liegt dagegen nicht vor, da die Löslichkeit der kristallinen Ausgangssubstanz in einer 0,9proz. * Methocel E 5-Lösung nicht erhöht ist.

Wie aus den Abbildungen 58 und 59 ebenfalls ersichtlich, wird die Freisetzungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes mit steigendem Molekulargewicht des Kolloides in der Initialphase herabgesetzt. Somit besteht ein Zusammenhang zwischen der Lösungsgeschwindigkeit und dem Molekulargewicht des eingesetzten Makromoleküls derart, daß die höhermolekularen Typen eine etwas langsamere Freisetzung bei einem ausgezeichneten Stabilisierungseffekt aufweisen.

Der Einfluß der Wirkstoffkonzentration in der Sprüheinbettung, d.h. die Relation Digoxin zum Celluloseether, spielt ebenfalls eine Rolle: Bei einem hohen Kolloidanteil wird die Kristallisationsgeschwindigkeit verzögert.

Im Gegensatz zum rein gesprühten Wirkstoff zeigen Digoxin-Kolloid-Sprüheinbettungen wesentlich höhere Übersättigungsraten. Damit ist der Nachweis einer stabilisierenden Wirkung der Celluloseether und ebenso der Notwendigkeit eines Kolloidzusatzes zur Erzielung stark übersättigter Lösungen erbracht worden.

*Diese Konzentration entspricht den Verhältnissen beim Auflösen einer 10proz. Digoxin-Sprüheinbettung.

4.3 Sprühtrocknung aus Wasser mit geringem organischen Lösungsmittelanteil

Auf Grund der geringen Wasserlöslichkeit des kristallinen Wirkstoffes (Sättigungskonzentration: 4 mg/100 ml, 310 K) wurde bisher eine Mischung aus 7 Teilen Chloroform und 3 Teilen Methanol als Lösungsmittel verwendet.

Der Einsatz organischer Lösungsmittel, insbesondere der chlorierten Kohlenwasserstoffe, ist in jüngster Zeit wegen der z. T. erheblichen Toxizität prohibitiv geworden. Chloroform wirkt bei Inhalation und oraler Aufnahme narkotisch, in größeren Mengen (50 - 70 mg/100 ml Blut) atemlähmend und ruft bei chronischer Anwendung Leberschäden hervor. Außerdem gelten chlorierte Kohlenwasserstoffe als potentielle Carcinogene, weshalb in den USA die Verwendung von Chloroform in Arzneimitteln, Kosmetika und Lebensmitteln seit 1976 verboten ist (223). Die maximale Arbeitsplatzkonzentration (MAK) beträgt 50 mg/m^3 (Gefahrenklasse 2 nach TA Luft). Die daraus resultierenden Auflagen der Umweltschutzbehörden zur Abtrennung bzw. Rückgewinnung aus der Abluft bewirken enorme Kosten bei der Installation entsprechender Filteranlagen, sodaß eine Wirkstoffoptimierung durch Sprühtrocknung nach dem bisherigen Verfahren auch aus wirtschaftlichen Gründen nicht zu vertreten ist. Daher mußte versucht werden, auf den Zusatz dieser unerwünschten Lösungsmittel - insbesondere auf Chloroform - zu verzichten. Die Lösung dieses Problems gelang durch Ausarbeitung der im folgenden beschriebenen Verfahren*.

4.3.1 Suspensions-Sprüheinbettung

Wenn man eine Digoxin-Sprüheinbettung in MC oder in anderen indifferenten Kolloiden ohne Verwendung größerer Mengen organischer Lösungsmittel herstellen will, sollte man den Arznei-

*Publikation ist bereits erfolgt (224,225).

stoff - wegen der geringen Löslichkeit - nicht direkt in der wässrigen Lösung des Makromoleküls dispergieren, sondern eine Ausfällung unter standardisierten Bedingungen durchführen. Auf diesem Weg wird eine feinpartikuläre Verteilung des Glykosids in reproduzierbarer Weise erreicht. Die Herstellung von Suspensions-Digoxin-Sprüheinbettungen erfolgt also zunächst durch Vereinigung einer methanolischen Glykosidlösung (0,5 g/50 ml) mit einer wässrigen Lösung des Kolloids (4,5 g/500 ml) unter kontinuierlichem Rühren (50 UpM) bei Zimmertemperatur. Unmittelbar anschließend wird die Sprühtrocknung - z.B. mit Hilfe eines Laborsprühtrockners - unter den im folgenden angegebenen Bedingungen durchgeführt:

Eingangstemperatur: 433 K (160 °C)

Ausgangstemperatur: 383 K (110 °C)

Düsendruck

(Zweistoffdüse) : $1,3 \times 10^5$ Pa (1,3 bar)

Röntgendiffraktometrische und rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen dieser Produkte zeigen bei Verwendung von MC bzw. HPMC als makromolekulare Träger überraschenderweise keine Hinweise auf kristallines Digoxin. Andere Kolloide - z.B. Galaktomannan (GM) oder Dextran (DEX) - ergeben in Abhängigkeit vom Typ und der Konzentration mehr oder weniger stark ausgeprägte Reflexe.

Abbildung 60 gibt die Lösungsgeschwindigkeitskurven verschiedener Suspensionseinbettungen wieder und verdeutlicht, daß während eines Zeitraumes von mehreren Stunden - bezogen auf kristallines Digoxin - deutlich übersättigte Lösungen entstehen. Im Gegensatz dazu zeigten aber Digoxin-Kolloid-Einbettungen, die durch Versprühen einer organischen Lösung hergestellt worden waren (4.2), beim Auflösen wesentlich höhere Übersättigungsraten. Daher ist die Annahme gerechtfertigt, daß, zumindest für den Fall der Verwendung von Celluloseethern,

4.3.2 Sprühtrocknung unter Verwendung einer speziellen Zerstäubungseinrichtung

Beim Vereinigen einer methanolischen Digoxin-Lösung mit einer wässrigen Kolloid-Lösung - bevorzugt MC und HPMC - fällt der Wirkstoff nicht sofort aus, sondern man erhält über einen mehr oder weniger längeren Zeitraum eine stabile Lösung. Vollzieht man nun die Vereinigung beider Partiallösungen vor einer Zerstäubungseinrichtung mit Hilfe eines Y-Stücks oder besser in einer Düse selbst, z.B. durch Verwendung einer Dreistoffdüse (Abbildung 62), so erhält man beim Versprühen un-

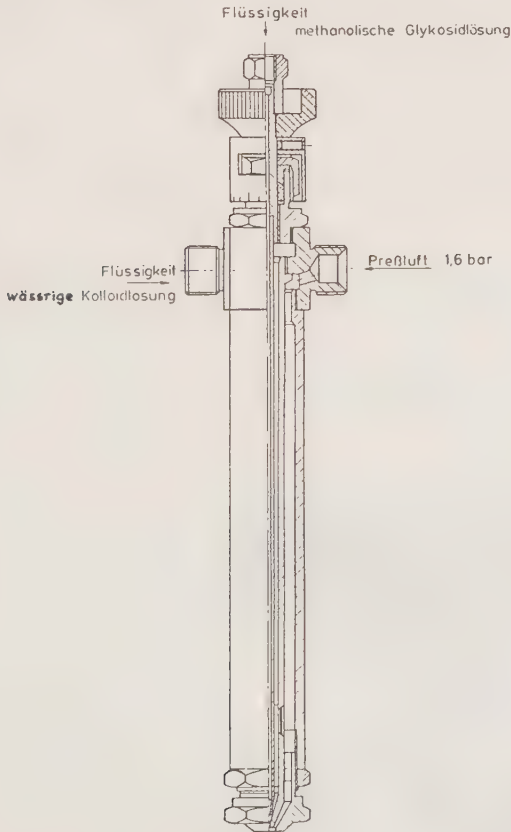


Abb. 62 Schnittzeichnung der verwendeten Dreistoffdüse

ter den in Tabelle 16 angegebenen Bedingungen Produkte, die die physikalisch-chemischen Eigenschaften der aus organischen Lösungsmitteln gewonnenen Einbettungen aufweisen.

Tabelle 16 Versuchsbedingungen zur Herstellung einer Digoxin-Kolloid-Sprüheinbettung aus Methanol/Wasser-Gemischen (1:9)

Konzentration	: 0,5 g Digoxin in 50 ml Methanol
der Lösungen	4,5 g Makromolekül in 450 ml Aqua dest.
Eingangstemperatur	: 433 K (160 °C)
Ausgangstemperatur	: 110 K (110 °C)
Düsendruck	
Zweistoffdüse	: $1,3 \times 10^5$ Pa (1,3 bar)
Dreistoffdüse	: $1,6 \times 10^5$ Pa (1,6 bar)
Vakuum	: 40 - 50 mm H ₂ O

Untersuchungen dieser röntgenamorphen Präparate mittels REM (Abbildung 63) und DTA (Abbildung 64) sowie die In-vitro-Freisetzungskinetik (Abbildung 65) zeigen ein analoges Verhalten zu den nach 4.2 hergestellten Produkten.

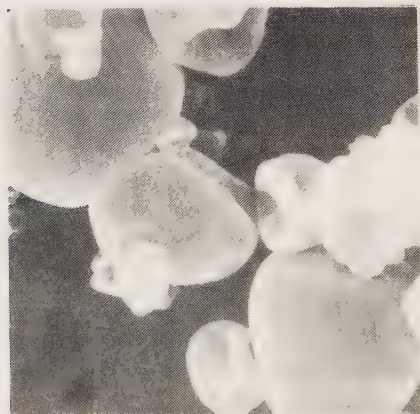


Abb. 63

REM-Aufnahme; Digoxin MC A 15
1:1; gesprüht mittels Zwei-
stoffdüse aus CH₃OH/H₂O 1:9;
Vergrößerung: 2000x

5 µm

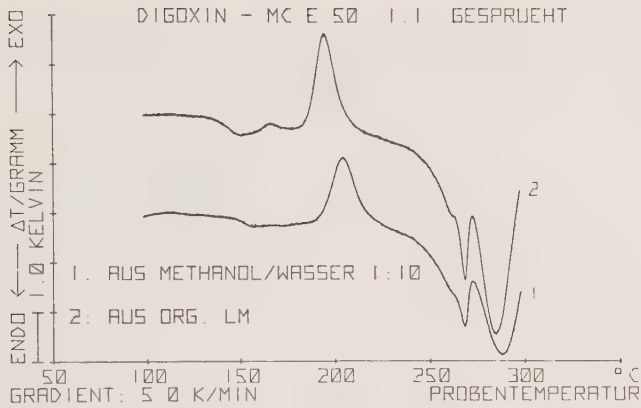


Abb. 64 DTA-Kurven von 50proz. Digoxin-HPMC-Einbettungen; gesprüht nach verschiedenen Verfahren (5 K/min., N_2 : 25 ml/min.)

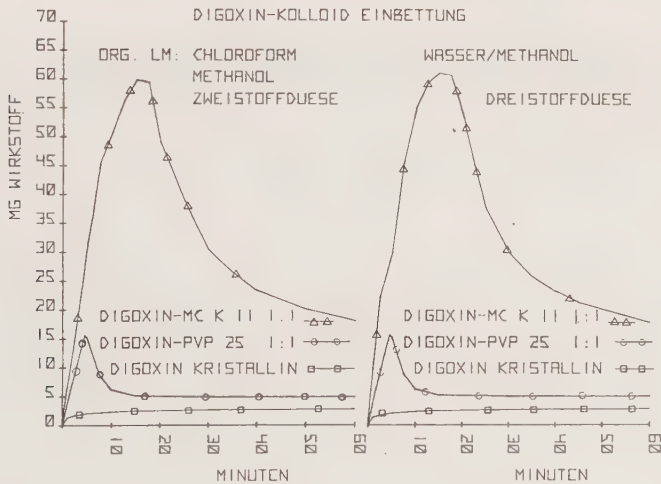


Abb. 65 Auflösungsprofile von 50proz. Digoxin-Sprüheinbettungen; Herstellung durch verschiedene Sprühtrocknungsverfahren

Günstiger, und im Hinblick auf eine spätere Verarbeitung der Einbettung vorteilhafter, erwies sich die geringere elektrostatische Aufladung und die dadurch bedingte bessere Fließfähigkeit dieser Proben.

Parakristalline Zustandsformen, die beim Versprühen von kolloidfreien Digoxin-Lösungen anteilmäßig neben amorphen Hohlkugeln entstehen können, bewirken, wie bereits erwähnt, eine unterschiedliche Löslichkeit des gesprühten Wirkstoffs. Im Gegensatz dazu erhält man beim Auflösen von verschiedenen Chargen der Digoxin-Kolloid-Einbettungen - auch bei gelagerten Mustern - *r e p r o d u z i e r b a r* identische Konzentrations/Zeit-Profile. Rasterelektronenmikroskopisch konnten ebenfalls keine Ordnungen nachgewiesen werden.

4.3.3 Digoxin-Sprüheinbettungen von nur wasserlöslichen Kolloiden

Nachdem es gelungen war, unter Verwendung der verschiedenen Celluloseether-Typen als Trägersubstanz Einbettungen aus wässrigen Systemen zu erhalten, konnte auch erstmals mit solchen Kolloiden gearbeitet werden, die nicht in organischen Lösungsmitteln, sondern nur in Wasser löslich sind. Dazu gehören u. a. verschiedene Galaktomannan- sowie Dextran-Typen.

Röntgendiffraktometrisch erscheinen die mit diesen Hydrokolloiden hergestellten Digoxin-Einbettungen amorph und zeigen in Abbildung 66 wiedergegebenes In-vitro-Freisetzungsverhalten. Diese Abbildung enthält auch die Auflösungskurve einer 50proz. Digoxin-PVP-Einbettung. PVP (verwendete Type: Kollidon 25®) ist bekanntlich sowohl in Wasser, als auch in organischen Lösungsmitteln löslich. Analog den bisher beschriebenen Digoxin-Sprüheinbettungen entstehen auch bei der Inkubation solcher Kolloideinbettungen übersättigte Lösungen in Wasser. Die hohen Konzentrationswerte, die man beim Auflösen einer Digoxin-Celluloseether-Sprüheinbettung erhält, werden von diesen Systemen jedoch nicht erreicht, d.h. Makromo-

leküle vom Typ der Celluloseether sind zur Herstellung von Digoxin-Sprüheinbettungen bevorzugt geeignet.

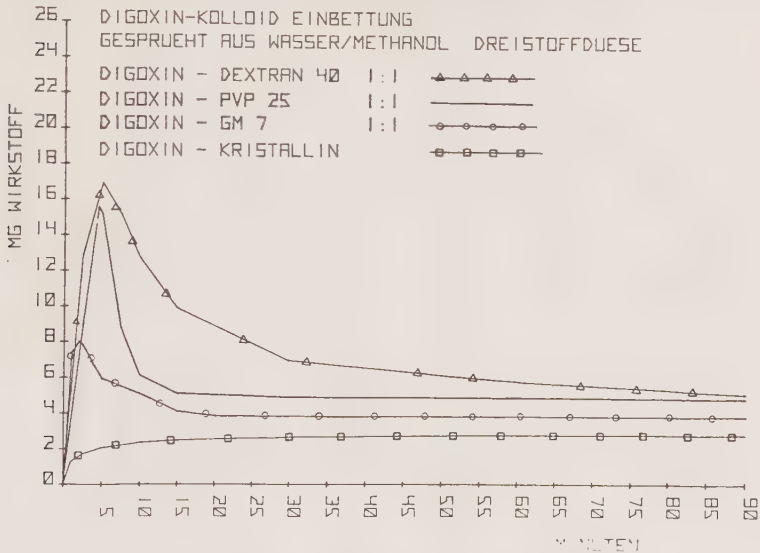


Abb. 66 Löslichkeit verschiedener 50proz. Digoxin-Sprüheinbettungen, gesprüht mittels Dreistoff-Düse

4.3.4 Diskussion der Ergebnisse

Aus den Versuchsergebnissen kann man ableiten, daß durch Einsatz von Celluloseether-Typen unter Verzicht auf Chloroform und starker Reduzierung des Methanolanteils Sprüheinbettungen des Digoxins herstellbar sind, die nicht nur stabilen, röntgenamorphen Wirkstoff enthalten, sondern hinsichtlich der Freisetzungseigenschaften sehr gut zu beurteilen sind (Tabelle 17).

Tabelle 17 Übersättigungsquotienten und Auflösungskonstanten verschiedener Digoxin-Sprühprodukte

Produkt	Q 90 sec	Q 15 min	Q 60 min	Q 24 h	k · 10 ⁻² mg/sec
Digoxin kristallin	1	1	1	1	1,6
Digoxin gesprüht	5,38	5,03	2,09	1,12	5,4
<u>Suspension:</u>					
DIG.-DEX 40 1:10	1,66	2,1	1,77	1	2,1
DIG.-MC E 5 1:19	2,31	4,6	4,55	2,44	2,4
DIG.-MC E 5 1: 9	4,87	<u>7,8</u>	5,16	2,48	<u>7,5</u>
<u>Sprüheinbettung:</u>					
DIG.-GM 7 1:1	3,21	1,65	1,45	1,45	5,5
DIG.-DEX 40 1:1	4,87	4,0	2,08	1,09	8,2
DIG.-PVP 25 1:1	3,44	2,07	1,85	1,09	5,7
DIG.-MC K 11 1:1	9,73	<u>24,63</u>	6,37	2,87	<u>16,4</u>
DIG.-MC 25 S 1:1	5,9	13,55	7,05	2,67	9,8
DIG.-MC A 15 1:1	5,9	12,64	4,5	2,69	9,6
DIG.-MC E 5 1:1	<u>18,18</u>	11,83	4,69	1,89	<u>53</u>
DIG.-MC E 15 1:1	<u>17,5</u>	12,5	5,1	2,08	<u>48</u>
DIG.-MC E 50 1:1	<u>13,06</u>	<u>18,5</u>	6,56	2,08	26
DIG.-MC E 5 1:9	6,15	<u>18,2</u>	<u>9,82</u>	<u>3,67</u>	11

Anm.: 1) Übersättigungsquotient; 2) Auflösungskonstante

$$Q = \frac{C \text{ Sprühprodukt (mg/100 ml)}}{C \text{ krist. Ausgangssubstanz (mg/100 ml)}}$$

$$k = \frac{\Delta C}{\Delta t} = \frac{C_2 - C_1}{t_2 - t_1} \quad \frac{\text{mg}}{\text{sec}}$$

Im einzelnen können die Eigenschaften von Digoxin-Sprüheinbettungen aus wässrigen Systemen folgendermaßen charakterisiert werden:

- 1) Bei allen untersuchten Kolloiden entstehen übersättigte Lösungen in Wasser.
- 2) Ein kristallisationshemmender Effekt ist in folgendem Sinne unterschiedlich stark ausgeprägt: Methylcellulose (MC) und Hydroxypropylmethylcellulose (HPMC), gefolgt von Dextran (DEX), Polyvinylpyrrolidon (PVP und Galaktomannan (GM).

- 3) Die Wirkstofffreisetzung aus einer MC- bzw. HPMC-Einbettung wird vom Digoxin-Gehalt selbst, sowie vom Polymerisationsgrad (DP), d.h. dem Molekulargewicht des Kolloids beeinflußt.

4.4 Betrachtungen zur Wirkstoff-Liberation aus Kolloid-Sprüheinbettungen

Zum Mechanismus der beschleunigten Wirkstofffreigabe von normalerweise sehr schwer wasserlöslichen Arzneistoffen aus makromolekularen Trägern findet man in der Literatur die im folgenden wiedergegebenen Auffassungen:

- 1) Der Arbeitskreis um CHIOU und RIEGELMAN (226) diskutiert eine molekulardisperse Verteilung des Wirkstoffes im Kolloid und erklärt damit die verbesserte Löslichkeit und Lösungsgeschwindigkeit.
- 2) HIGUCHI und Mitarbeiter konnten erstmals quantitative Zusammenhänge bei der Auflösung von Einbettungen aufzeigen (227). Das vorgeschlagene Modell (Sulfathiazol-PVP) geht davon aus, daß sich Träger und Wirkstoff unabhängig voneinander nach dem Kontakt mit dem Lösungsmittel auflösen. Die Lösungsgeschwindigkeiten beider Komponenten hängen dann von ihren Löslichkeiten und ihren Diffusionskoeffizienten im Sinne einer NOYES-NERNST-Beziehung (Gleichung 11) ab:

$$\frac{dc_x}{dt} = \frac{D \cdot O}{h} \cdot (c_s - c_x) \quad (\text{Gl. 11})$$

$\frac{dc_x}{dt}$: Auflösungsgeschwindigkeit

D : Diffusionskoeffizient

O : Oberfläche

c_s : Sättigungskonzentration

c_x : Konzentration in der umgebenden Flüssigkeit zum Zeitpunkt x

- 3) JUNGINGER (228) veröffentlichte Untersuchungen, wonach die Freisetzung von Acetylsalicylsäure aus einer MC-Einbettung gemäß einer von LAPIDUS und LORDI aufgestellten Gleichung (229,230) abhängig ist. Danach ist die Wirkstoff-Liberation aus einer Matrix eine Funktion von $k \cdot \sqrt{t}$, wobei k proportional der Wirkstoffkonzentration ist.
- 4) MERKLE (145) postulierte, daß nur die Eigenschaften des Trägers für die Freigabegeschwindigkeit entscheidend sind, während der energetische Zustand des Wirkstoffes in der Einbettung keine Bedeutung hat.

Angesichts dieser z.T. konträren Meinungen über die Wirkstoff-Liberation aus Einbettungen soll im vorliegenden Fall versucht werden, durch Bestimmung der wahren Geschwindigkeitskonstanten (s. 2.4.2.6.1) eine genauere Kennzeichnung der Digoxin-Auflösung aus Celluloseether-Sprüheinbettungen vorzunehmen.

4.4.1 Bestimmung der oberflächenunabhängigen Geschwindigkeitskonstanten

Zur Ermittlung der Wirkstofffreisetzung über einer - während der Inkubationsdauer konstanten - Austausch-Oberfläche wurde die in Abbildung 67 schematisch wiedergegebene Anordnung benutzt.

Dabei wurde ein manuell auf einer Handpresse bereiteter Preßling der zu untersuchenden Sprüheinbettung derart in eine Edelstahl-Matrize plaziert, daß die eine Seite des Preßlings flach mit einer Seite der Matrize abschloß, während ein Korkeinsatz die dem Preßling abgewandte Öffnung der Matrize verschloß. Die Matrizenbohrung betrug 0,7 cm, was einer Querschnittsoberfläche von $0,3848 \text{ cm}^2$ entspricht. Matrize samt Preßling wurden in das Auflösungsgefäß der Paddle-Apparatur (USP XX) abgesenkt, das 500 ml Inkubationsflüssigkeit (Aqua dest., 310 K) enthielt.

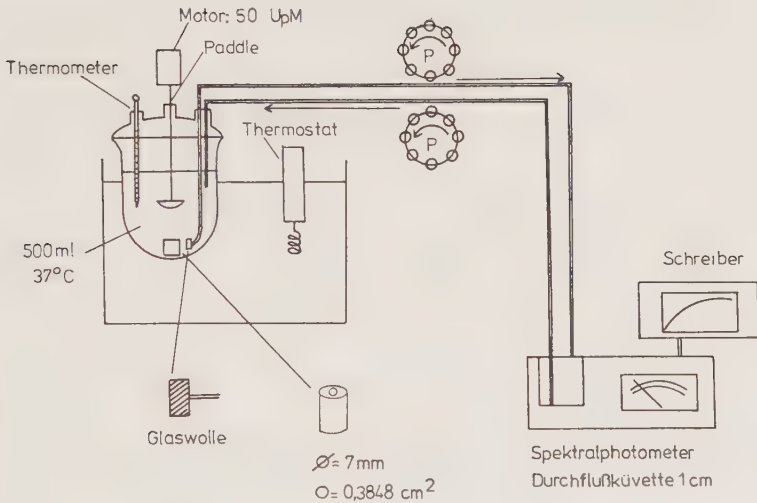


Abb. 67 Versuchsanordnung zur Bestimmung der oberflächenunabhängigen Freisetzungsgeschwindigkeitskonstanten

Definierte hydrodynamische Bedingungen ergaben sich aus den festgelegten Positionen von Matrizie und Rührer. Die Rührergeschwindigkeit betrug 50 UpM.

Durch Umpumpen der Inkubationsflüssigkeit durch eine Durchflußküvette (Schichtdicke: 1 cm) wurde die Konzentration des freigesetzten Digoxins kontinuierlich spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 220 nm bestimmt.

Abbildung 68 gibt die für Digoxin-Methocel E 5-Einbettungen ermittelten Konzentrations/Zeit-Profile wieder. Bei Wirkstoffkonzentrationen größer als 10 Prozent ändert sich durch Auskristallisation des Digoxin (Abbildung 69) der zunächst lineare Verlauf der Auflösungs geschwindigkeitskurve.

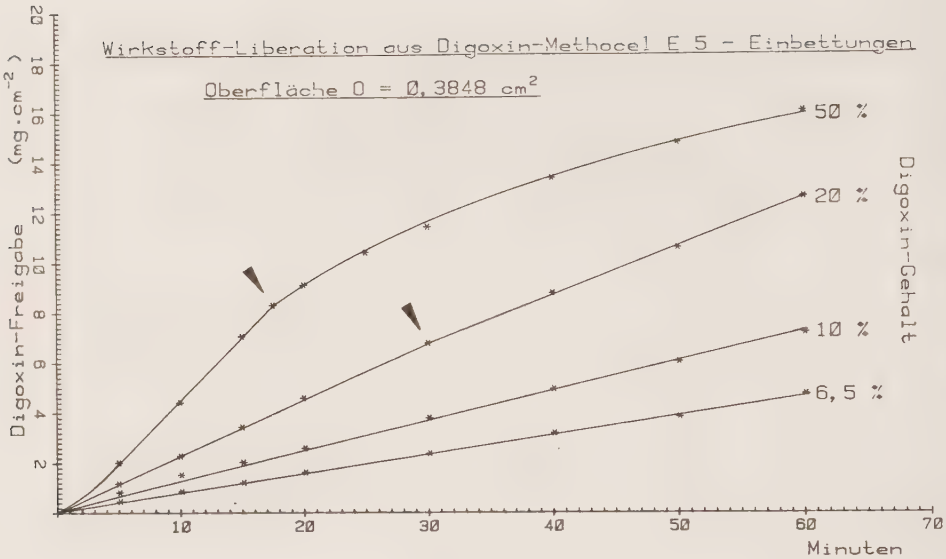


Abb. 68 Freigabeprofile von Digoxin-Methocel E 5-Sprüh-einbettungen mit verschiedenen Wirkstoffanteilen



Abb. 69 Polarisationsmikroskopische Aufnahme der Preßlingsoberfläche nach einer Inkubationszeit von 60 min.

Dabei bildet sich eine neue Grenzschicht, die zu einer Behinderung der weiteren Wirkstoff-Liberation führt. Die ermittelten Freigabekonstanten (Steigung der Geraden) sind mit dem Wirkstoffgehalt der Sprüheinbettung korrelierbar.

Abbildung 70 gibt diesen Zusammenhang graphisch wieder.

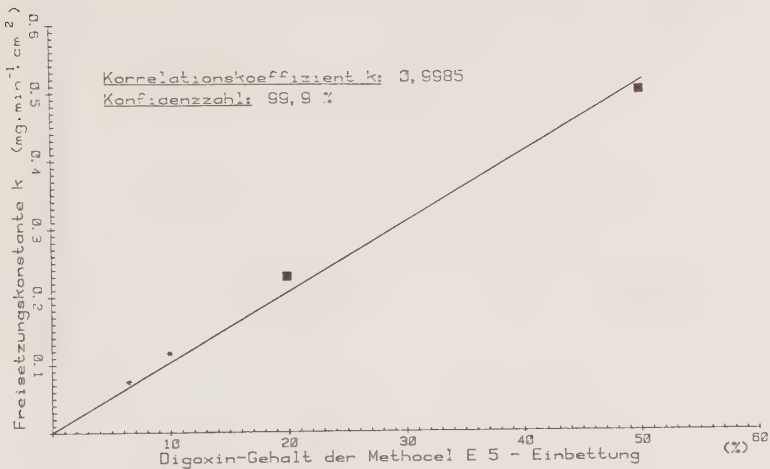


Abb. 70 Wirkstofffreigabegeschwindigkeiten von Digoxin-Methocel E 5-Einbettungen in Abhängigkeit vom Wirkstoffanteil

Die viereckigen Symbole sollen verdeutlichen, daß eine lineare Beziehung nur in der Anfangsphase der Freisetzung gilt. Für MC-Einbettungen konnten analoge Ergebnisse ermittelt werden.

Die Bestimmung der oberflächenunabhängigen Geschwindigkeitskonstanten von Digoxin-Celluloseether-Sprüheinbettungen bestätigen die bei 4.3.4 formulierten Aussagen, d.h. im vorliegenden Fall führen beide In-vitro-Freisetzungsmethoden zum gleichen Ergebnis.

Die von JUNGINGER (228) postulierte Abhängigkeit der freigesetzten Wirkstoffmenge von dem Produkt aus $k \cdot \sqrt{t}$ konnte im Rahmen dieser Untersuchungen nicht bestätigt werden. Es wurden anschließend rheologische Messungen an hochviskosen MC-Lösungen, deren Ausbildung auch während der Inkubation an der Preßlingsoberfläche angenommen werden kann, durchgeführt,

die eine Wechselwirkung zwischen Acetylsalicylsäure und Methylcellulose zeigten. Alle ermittelten Viskositätswerte bei Gegenwart des Wirkstoffes waren deutlich höher, sodaß die vom genannten Autor beobachtete retardierende Wirkung der MC auf der während der Inkubation zunehmenden Viskosität beruht.

Sollte die Hypothese von MERKLE (145) zutreffen, dann müßte man bei Verwendung eines Preßlings einer physikalischen Mischung von kristallinem Digoxin und MC bzw. HPMC identische Freisetzungskonstanten im Vergleich zu einer Einbettung erhalten. Tatsächlich wurden vergleichbare Werte ermittelt, sodaß bei Ausbildung einer gequollenen Gelschicht der von MERKLE vorgeschlagene Mechanismus im vorliegenden Fall bestätigt werden konnte. Solche gequollenen Schichten des Makromoleküls entstehen aber *n u r* bei der Verwendung von in einer Matriz e eingeschlossenen Wirkstoff-Preßlingen. Bei der Auflösung einer Digoxin-Sprüheinbettung in der Gastrointestinalflüssigkeit kann jedoch angenommen werden, daß das Makromolekül *k e i n e* vergleichbare Gelschicht ausbildet, sondern verhältnismäßig rasch in den Zustand der unbegrenzten Solvatation übergeht.

In diesen Fällen, also nach der Hydratation des Kolloides, wird jedoch die Wirkstoff-Liberation gemäß der NOYES-NERNST-Beziehung (c_s und Q in Gleichung 11) kontrolliert, d.h. der energetische Zustand und die Verteilung des Digoxins im makromolekularen Träger besitzen sehr wohl einen Einfluß auf die Freisetzungsr ate. Dieser Sachverhalt wird beim Vergleich der Konzentrations/Zeit-Profile einer Suspensions-Sprüheinbettung und einer analogen Einbettung, gesprüht aus organischem Lösungsmittel, besonders deutlich (Abbildung 71). Obwohl die Partikelgröße der Hohlkugeln und das verwendete Kolloid identisch sind, werden beim Auflösen einer Suspensions-Sprüheinbettung deutlich geringere Konzentrationen erreicht.

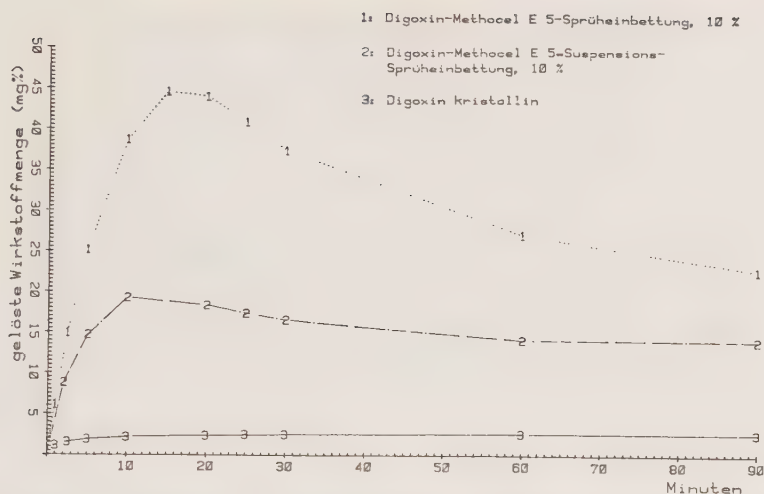


Abb. 71 Freigabeprofile von Digoxin-Methocel E 5-Einbettungen; gesprüht nach unterschiedlichen Methoden

Die Erkenntnis, daß die Digoxin-Freisetzung aus einer Einbettung nur beim Vorliegen einer gequollenen Gelschicht unabhängig vom physikalischen Zustand des Wirkstoffes selbst ist, hat Auswirkungen auf die Formulierung einer Arzneiform: Ist eine Sprüheinbettung Bestandteil einer galenischen Zubereitung, dann muß eine zügige Auflösung dieses Systems gewährleistet sein, da es anderenfalls nur zur Quellung des Makromoleküls kommt und dadurch die günstigen Eigenschaften einer Einbettung bzgl. Lösungsgeschwindigkeit und Sättigungskonzentration verloren gehen.

4.5 Messung der Inhibierung des Kristallwachstums von Digoxin

4.5.1 Trübungsgeschwindigkeitsmessung

Bei der Wirkstoff-Liberation aus einer Sprüheinbettung kommt dem Träger vor allem eine kristallisationshemmende, d.h. stabilisierende Wirkung zu. Ziel dieses Abschnittes ist es daher, ein Meßsystem zu entwickeln, das diese Polymereigenschaft charakterisieren kann. Durch eine Bestimmung der Kristallisationsgeschwindigkeit sollte auch die Möglichkeit gegeben sein, die Eigenschaften einer Sprüheinbettung bei der In-vitro-Freisetzungsprüfung vorausszusagen, ohne überhaupt einen Sprühprozeß durchgeführt zu haben.

Bei der Rekristallisation eines zunächst übersättigt gelösten Glykosides wird die wässrige Lösung deutlich getrübt. Vollzieht man die Ausfällung eines klar gelösten Digoxins unter definierten Bedingungen in wässrigen Systemen die jeweils unterschiedliche Kolloide enthalten, so kann man mit der im folgenden beschriebenen Apparatur verschiedene Trübungsintensitäten ermitteln.

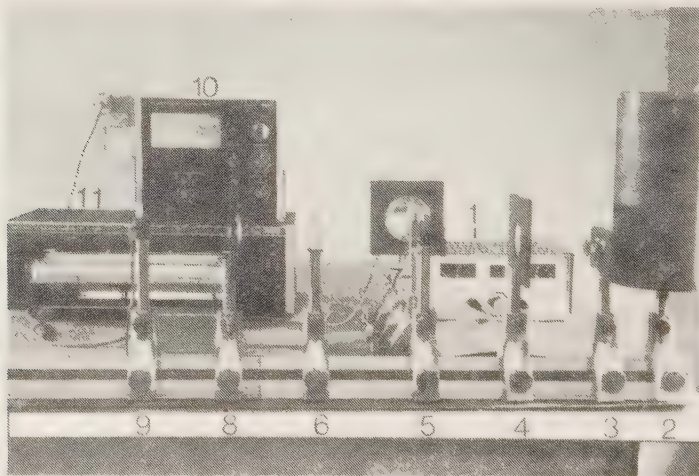


Abb. 72 Meßanordnung zur Bestimmung der Trübungsgeschwindigkeit (Erklärung siehe Text)

Die Meßanordnung ist in Abbildung 72 wiedergegeben. Mittels einer Gleichstromlichtquelle (12 V, 100 W) - 1, 2 - wird ein Spalt - 3 - durch eine Sammellinse ($f = 6,3 \text{ cm}$) - 4 - auf einem Spiegel abgebildet. Dieser Spiegel - 5 - ist halbdurchlässig, d.h. 50 Prozent des einfallenden Lichtes gehen unreflektiert durch, 50 Prozent werden reflektiert (Ausfallwinkel 45°). Beide Lichtstrahlen fallen jeweils auf eine Küvette - 6, 7 - (Schichtdicke 1 cm), welche durch Sammellinsen ($f = 5 \text{ cm}$) - 8 - vollständig auf zwei Photowiderstände - 9 - abgebildet werden. Diese sind mittels zweier weiterer Widerstände zu einer Wheatstone Brücke geschaltet (Abbildung 73).

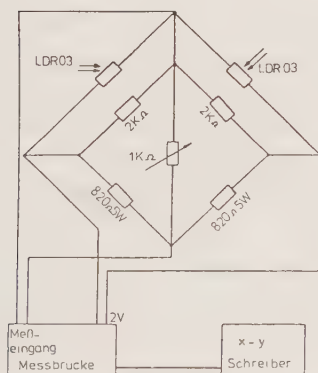


Abb. 73

Schaltbild zur Meßanordnung
in Abbildung 72

Vorgelegt wurden 3 ml einer wässrigen Kolloidlösung (Feststoffgehalt: 5 bzw. 45 mg), in die 0,5 ml methanolische Digoxin-Lösung (Feststoffgehalt: 5 mg) pipettiert wurden. Dies entsprach den Verhältnissen beim Auflösen einer 50 bzw. 10proz. Einbettung. Anschließend wurde sofort umgeschüttelt. Die Trübungsmessung erfolgte bei einer Temperatur von $293 \pm 1 \text{ K}$ wie folgt:

Zunächst wurden 3 ml Kolloidlösung und 0,5 ml Methanol in beide Küvetten gegeben. Mittels einer Trägerfrequenzmeßbrücke - 10 -, die eine konstante Spannung von 2 Volt erzeugte, wur-

de die Brücke so abgeglichen, daß kein Stromfluß stattfand, d.h. am Brückenkopf keine Spannung gemessen werden konnte. Wird nun in eine der Küvetten anstatt des reinen Methanols die methanolische Glykosidlösung gegeben, dann kommt es zur Wirkstoff-Ausfällung. Dadurch wird die Intensität des durchfallenden Lichtes geschwächt und es ergibt sich somit eine Differenz zum Referenzwiderstand. Nimmt die Trübung zeitabhängig zu, so verändert sich ständig das Widerstandsverhältnis der beiden Photowiderstände. Diese Widerstandsänderung kann als Spannung am Brückenkopf abgegriffen und über einen Meßverstärker - 10 - einem x,y-Schreiber - 11 - zugeführt werden. Dort wird das Signal auf der y-Achse registriert. Bei den ersten Versuchen zeigte sich, daß die optische Registriereinrichtung zu empfindlich reagierte, wenn lediglich eine viergliedrige Wheatstone-Brücke verwendet wurde. Erst durch Überbrückung der Photowiderstände mit $2\text{ k}\Omega$ -Widerständen und zusätzlichen Einbau eines dem Meßeingang parallel geschalteten $1\text{ k}\Omega$ -Potentiometers war zu verhindern, daß der Meßbereich bereits bei niedrigster Speisespannung und geringster Verstärkung überschritten wurde.

Durch die Registrierung der Trübungszunahme in Abhängigkeit von der Untersuchungszeit werden Diagramme der in Abbildung 74 schematisch wiedergegebenen Form ermittelt.

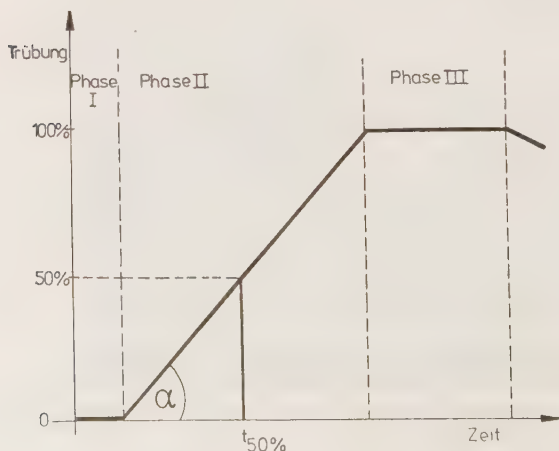


Abb. 74

Zeitlicher Verlauf
der Trübungsinten-
sitäten nach Aus-
fällung von Digoxin
- schematisch -

Tabelle 18: Versuchsergebnisse der Trübungsgeschwindigkeitsmessungen*

Pipettierte Digoxin-Lösung: 5 mg/0,5 ml Methanol Vorgelegte Polymer-Lösung : 5 bzw. 45 mg/3,0 ml Aqua dest.						
Makromolekül	Verhältnis Wirkstoff: Makro- molekül	t _{50%} (min)	α^0	I (sec)	II (min)	III (min)
--- (H ₂ O)	---	3,1	79,1	0	9	2,3
Alginsäure	1 : 1	1,6	82,1	0	7,2	0
DEX 40	1 : 1	2,8	81,9	0	7,4	3
DEX 40	1 : 9	2,8	82,6	0	8,2	1
DEX 40	1 : 49	2,9	81	0	10	1
DEX 60	1 : 1	2,9	79,7	0	9,3	0
DEX 60	1 : 9	2,2	84,3	0	8	1
GM 90	1 : 1	2,9	76,7	0	10	5
PEG 20000	1 : 1	3	78,7	0	8	2
Gelatine	1 : 1	2,9	78,2	0	9	1
PVP 25	1 : 1	6,1	62	0	12	1
PVP 25	1 : 9	5,3	60,1	0	14,8	1
HPMC E 5	1 : 1	7,6	45	24	17	3
HPMC E 15	1 : 1	8,8	23,6	30	18	2
HPMC E 50	1 : 1	10,4	25,2	24	24	4
MC A 15	1 : 1	6,9	40,8	12	17,5	3
MC A 4C	1 : 1	7,1	41,6	12	18	3
MC K 11	1 : 1	14	21	60	42	10
MC 25 S	1 : 1	9	30,1	12	21	2
HPMC E 5	1 : 9	15	19,3	60	54	30
MC A 15	1 : 9	14	29,7	60	50	29

*Mittelwerte aus drei Einzelmessungen.

Teilt man den Kurvenverlauf in drei Abschnitte auf, so läßt die Relation der Phasen zueinander eine Kennzeichnung in Analogie zum In-vitro-Freisetzungsverhalten einer Einbettung zu. Die drei Abschnitte der Diagramme zeigen in Phase I die Kristallisationsverzögerung (Latenzphase), in Phase II die Kristallisationsgeschwindigkeit und in Phase III die nach Abschluß der Kristallisation entstehende stationäre Phase an. Es sind folgende Aussagen möglich:

- Je höher die Anfangsübersättigung beim Auflösen einer Sprüheinbettung ist, desto länger ist Phase I.
- Je ausgeprägter die Übersättigung ist, desto größer ist Phase II bzw. kleiner ist α .
- Je besser die kristallisationsinhibierende Wirkung des Kolloides ist, desto länger ist Phase III.

Alle in Form von Sprüheinbettungen dargestellten Systeme sowie weitere Kolloide wurden in einer systematischen Versuchsreihe mit der beschriebenen Apparatur untersucht.

Tabelle 18 gibt die ermittelten Daten wieder und weist die Überlegenheit der Celluloseether erneut aus.

Korreliert man die Flächen der In-vitro-Freisetzungskurven (Abbildung 58 und 59), die beim Auflösen von Digoxin-Celluloseether-Sprüheinbettungen nach einer Inkubationszeit von 90 Minuten erhalten werden, mit den bei der Trübungsmessung bestimmten $t_{50\%}$ -Werten, so ergibt sich ein linearer Zusammenhang ($k = 0,988$, $p < 0,01$), der in Abbildung 75 graphisch wiedergegeben ist. Auf der Abszisse ist der Flächenzuwachs, ausgehend von der geringsten planimetrisch ermittelten Fläche (Digoxin-MC A 15 1:1 = 0 %) bis zum höchsten Wert (Digoxin-HPMC E 5 1:9 = 100 %) angegeben.

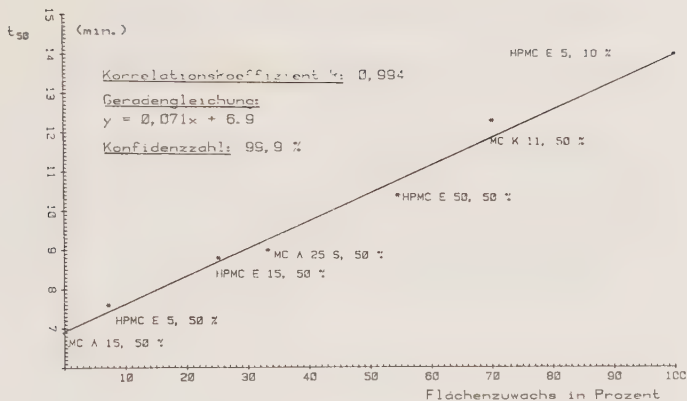


Abb. 75 Zusammenhang zwischen Fläche der In-vitro-Freisetzungskurven und ermittelten $t_{50\%}$ -Werten

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß mit der vorgestellten Methode zur Messung der Trübungsgeschwindigkeit ein "Screening" von makromolekularen Hilfsstoffen auf ihre Verwendbarkeit für die Herstellung von Digoxin-Sprüheinbettungen durchgeführt werden kann. Dabei ist der erforderliche Zeitaufwand (ca. 30 min.) sehr gering.

4.5.2 Kontinuierliche röntgendiffraktometrische Ermittlung der Rekristallisation von amorphem Digoxin

Die Zunahme der Kristallinität von amorphem Digoxin bei Kontakt mit Wasser bzw. wässrigen Kolloidlösungen kann auch röntgendiffraktometrisch verfolgt werden (231), da die Peakhöhe des Reflexes bei $2\theta = 16,4^\circ$ ($d = 5,4 \text{ \AA}$) proportional dem K.I.-Wert der Probe ist (s. 2.4.2.2).

Zur direkten Messung der Rekristallisationsgeschwindigkeit wurde ein speziell angefertigter Probenträger (s. Anhang) benutzt, der sich vom normal verwendeten dadurch unterschied,

daß die Unterseite der Probenkammer aus einem auswechselbaren Membranfilter - Porengröße $0,45 \mu\text{m}$ - bestand.

Die Präparation und Messung erfolgt nach dem im folgenden beschriebenen Verfahren:

100 mg gesprühtes Digoxin wird unter "lockerer Schüttung"* in den Probenbehälter gegeben. Anschließend saugt man mittels einer Wasserstrahlpumpe 100 ml Wasser bzw. 100 ml einer 0,1proz. wässrigen Kolloidlösung innerhalb von jeweils 3 Minuten hindurch, verschließt die Oberseite des Probenträgers mittels einer straff gezogenen Parafilm M[®]-Folie (Verhinderung der Wasserverdunstung) und registriert die Intensitätswerte bei konstantem Beugungswinkel von $2\theta = 16,4^\circ$. Nach 60 Minuten wird die feuchte Probe bei 373 K im Trockenschrank getrocknet, anschließend der K.I.-Wert röntgendiffraktometrisch durch flächenmäßige Auswertung (2.4.2.2) bestimmt und mit der Peakhöhe bei $2\theta = 16,4^\circ$ gleichgesetzt. Die Zunahme der Kristallinität läßt sich nun ermitteln, indem man die kontinuierlich registrierten Intensitätswerte damit in Beziehung setzt.

Abbildung 76 zeigt die Rekristallisationsgeschwindigkeit von amorphem Digoxin in Wasser bzw. 0,1proz. Methocel E5-Lösung und belegt ebenfalls die gute kristallisationsinhibierende Wirkung der Celluloseether.

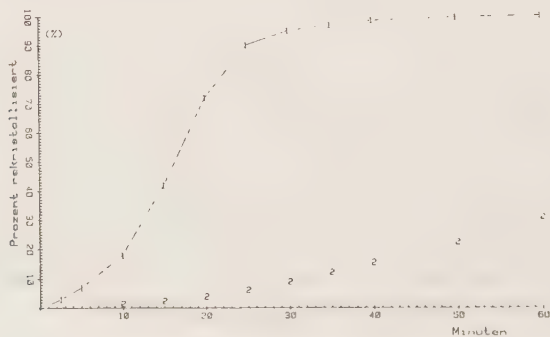


Abb. 76 Rekristallisationsgeschwindigkeit von amorphem Digoxin
(1: 100 ml Aqua dest.; 2: 100 ml 0,1proz. wässriger
Methocel E5-Lösung)

*In Kompaktieren der Probe erschwert eine Benetzung mit dem Lösungsmittel.

4.6 Auswahl der zur Weiterverarbeitung benutzten Sprüheinbettung

Für die beabsichtigte Formulierung einer Arzneiform wurde aus der Vielzahl der dargestellten Sprüheinbettungen eine 10proz. Digoxin-Methocel E5-Einbettung zur Weiterverarbeitung ausgewählt. Dieses System hatte sich sowohl bei der In-vitro-Freisetzungsprüfung (Abbildung 70 und Abbildung 59) als auch bei der Trübungsgeschwindigkeitsmessung (Tabelle 18) als optimal erwiesen.

Ebenfalls vorteilhaft ist, daß es sich bei Methocel E5 um eine Hydroxypropylmethylcellulose mit niedrigem Molekulargewicht handelt und daher eine geringe Tendenz zu Quellung und Verklebung vorliegt.

5. Formulierung einer galenischen Zubereitung

5.1 Überlegung zur Applikationsform

Zunächst sollen physiologische Gesichtspunkte diskutiert werden, die bei der Auswahl einer optimalen Applikationsform berücksichtigt werden müssen.

Geschwindigkeit und Ausmaß der Resorption werden entscheidend von der Verweildauer der Glykoside in bestimmten Darmabschnitten bestimmt. Während man für Digitoxin eine vollständige Resorption sowohl aus proximalen als auch aus distalen Darmabschnitten beobachtet (69), wird Digoxin selektiv in den oberen Dünndarmabschnitten resorbiert (69). Das Vorliegen dieses sogenannten Resorptionsfensters wird nach NYBERG durch die in Abbildung 77 wiedergegebene graphische Darstellung verdeutlicht, in der die Geschwindigkeitskonstante der Absorption gegen die Zeit aufgetragen ist (51).

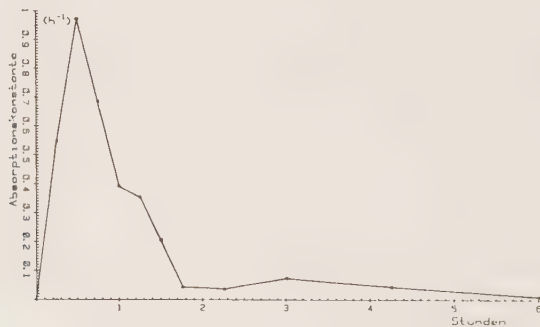


Abb. 77 Zeitlicher Verlauf der Digoxin-Resorption nach (51)

Die hydrolytische Desaktivierung von Digoxin durch die Magensäure (pH 3) wurde bereits erwähnt (1.3). Durch Abspaltung der Digitoxosen entstehen Produkte, die nur eingeschränkt resorbiert und dann durch Glukuronidierung rasch inaktiviert werden (92, 232).

Für den Galeniker ergeben sich bei der Formulierung einer peroralen Digoxin-Zubereitung auf Grund der genannten physiologischen Verhältnisse folgende Konsequenzen:

Das zu entwickelnde System muß durch eine hohe Wirkstoff-freigabegeschwindigkeit gekennzeichnet sein (hohe Digoxin-Konzentration am Resorptionsort) und sollte eigentlich zur Vermeidung der Hydrolyse einen magensaftresistenten Überzug aufweisen.

Der Arbeitskreis um H. FLASCH (29) veröffentlichte Ergebnisse, wonach aus magensaftresistent überzogenen Komprimaten Digoxin schlecht resorbiert wird. Offensichtlich kann der Schutzfilm den pH-Verhältnissen im Duodenum nicht so angepaßt werden, um bereits am Resorptionsfenster eine hohe Wirkstoffkonzentration zu garantieren. Nach Applikation einer Digoxin-Lösung verteilt sich das Glykosid gleichmäßig im Magen-Darm-Trakt, daher wird der proximale Teil des Dünndarms ebenfalls nicht optimal genutzt. Wegen der relativ schlechten Auflösung der Kapselwand (233) sind bei der Applikation von Hartgelatine kapseln folglich auch Probleme zu erwarten. Diese Applikationsform war im vorliegenden Fall wegen der Gefahr des "Verquellens" der Einbettung (4.4.1) außerdem prohibitiv. Die günstigsten Verhältnisse sind daher beim Einsatz von Weichgelatine kapseln bzw. schnell zerfallenden und gut freisetzenden Tabletten zu erwarten, wobei eine Verarbeitung der Sprüheinbettung bevorzugt durch die Herstellung von festen Komprimaten erfolgen sollte.

Ziel der folgenden Untersuchungen war es deshalb, eine Tablettenformulierung zu entwickeln, die eine optimale Resorption des Wirkstoffes gewährleistet.

5.2 Problematik niedrigdosierter fester Arzneiformen

Herzglykoside werden als sehr stark wirkende Arzneistoffe in Einzeldosen von 0,1 - 0,25 mg verabreicht.

Diese Tatsache hat für den Galeniker zwei unterschiedliche Aspekte (234). Zum einen besteht die Tablette fast ausschließlich aus Hilfsstoffen, so daß die Gewichtseinheitlichkeit der Preßlinge und die galenischen Kennzahlen, wie z.B. Zerfall, Härte und Friabilität, sich allein durch Variation der Hilfsstoffe optimieren lassen. Zum anderen bereitet es aber erhebliche technologische Schwierigkeiten, eine gleichmäßige Verteilung des in so geringer Menge vorliegenden Glykosides in der Hilfsstoffmischung vorzunehmen, um die deklarierte Wirkstoffmenge für jede einzelne Tablette sicherzustellen. Dieser Sachverhalt geht aus Abbildung 78 hervor (235).

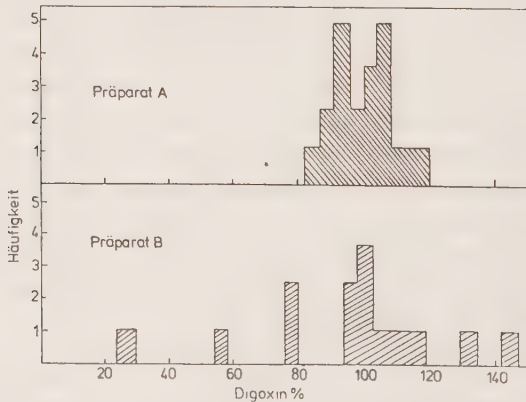


Abb. 78 Dosierungsgenauigkeit von Digoxin-Tabletten in Abhängigkeit von der Herkunft - nach (235) -

Von der Güte der Mischung der Einzelkomponenten hängt entscheidend die Einheitlichkeit der Wirkstoffverteilung in den Tabletten ab. Wie Untersuchungen an Digoxin-Tabletten zeigten (236), kann die Inhomogenität der Tablettenmasse als Fehlerquelle

der Dosierung wesentlich stärker in Erscheinung treten als die Gewichtsabweichung der Tabletten.

5.2.1 Statistische Beziehungen für die Berechnung der Gehaltseinheitlichkeit in niedrigdosierten, festen Arzneiformen

Das bestmögliche Ergebnis beim Mischen pulverförmiger Arznei- und Hilfsstoffe ist eine völlig zufällige, sog. stochastische Verteilung der Einzelpartikel in der Mischung. Durch statistische Methoden kann die Güte solcher Zufallsmischungen berechnet werden (237).

POOLE, TAYLOR und WALL (237) entwickelten eine Formel (Gleichung 12) zur Berechnung der relativen Standardabweichung s_{rel} des Arzneistoffgehaltes in den Einzeldosen eines Gemisches aus zwei Komponenten x und y:

$$s_{rel} = \frac{100}{x} \cdot \sqrt{\frac{\frac{x \cdot y}{M}}{y \cdot \bar{m}_x + x \cdot \bar{m}_y}} \quad (Gl. 12)$$

s_{rel} : Stochastische Streuung des Arzneigehaltes
in den Einzeldosen

x : Gewichtsanteil des Arzneistoffes an der Gesamtmenge

y : Gewichtsanteil der Hilfsstoffe an der Gesamtmenge

M : Tablettengesamtgewicht

$\bar{m}_x$: Mittleres Teilchengewicht des Arzneistoffes

$\bar{m}_y$: Mittleres Teilchengewicht der Hilfsstoffe

Die mittleren Teilchengewichte $\bar{m}_x$ und $\bar{m}_y$ sind unter vereinfachter Annahme einer Kugelform aus den mittleren, volumenbezogenen Korngrößen $\bar{d}_v$ errechenbar:

$$\bar{m} = \frac{\pi \cdot \rho \cdot \bar{d}_v^3}{6} \quad (\text{Gl. 13})$$

ρ = Dichte des Arzneistoffes

Geht man davon aus, daß die Zufallsverteilung das erreichte Optimum der Mischgüte darstellt, so ist s_{rel} ein Maß für die bestmögliche Gehaltseinheitlichkeit, die in den Einzeldosen erreicht werden kann. Es muß jedoch noch in Betracht gezogen werden, daß die Wirkstoff-Homogenität bei festen, einzeldosierten Zubereitungen zusätzlich von den Gewichtsschwankungen der Tabletten verschlechtert wird. Diese stellen eine von der Mischgüte unabhängige Größe dar und werden deswegen durch Gleichung 12 nicht erfaßt.

Bei niedrigem Arzneigehalt sind überwiegend die Daten des Arzneistoffes (Korngröße, Dosierung) für s_{rel} ausschlaggebend. Mit abnehmenden Wirkstoffanteil x spielt das mittlere Teilchengewicht der Hilfsstoffe eine immer geringere Rolle für die stochastische Streuung, weil $\bar{m}_y$ nur in Form des Produktes $x \cdot \bar{m}_y$ in der Gleichung 12 enthalten ist.

In einer nach JOHNSON (238) angegebenen Formel für niedrige Wirkstoffgehalte bis 1 % ist daher die Hilfsstoffkorngröße nicht berücksichtigt, ebenfalls ist in diesen Fällen das Tablettengewicht M durch das Gewicht G der Arzneistoffeinzeldosierung ersetzt:

$$s_{\text{rel}} = 100 \cdot \sqrt{\frac{\pi \cdot \rho}{6 \cdot G} \cdot \bar{d}_v^3} \quad (\text{Gl. 14})$$

Damit s_{rel} auch bei optimalem Mischerfolg ein bestimmtes Maß nicht überschreitet, muß daher der Arzneistoff um so feiner sein, je niedriger er dosiert wird.

Im vorliegenden Fall der Formulierung von Digoxin-Tabletten darf nach Gleichung 14 bei einer Einzeldosis von 0,1 mg und der zugrunde gelegten Arzneistoffdichte von 1,25 g/ml die mittlere Korngröße des Glykosids 20 μ m nicht überschreiten, um eine Streuung des Gehaltes von 1 % zu gewährleisten. Somit ist es notwendig, im Handel erhältliches Digoxin (Teilchengröße 100 μ m) zu mikronisieren. Infolge dieses Arbeitsprozesses kommt es zu einer Beeinflussung des physikalischen Zustandes (Teilamorphisierung), der sich, wie in Punkt 2.4.2.4 nachgewiesen, zeitabhängig ändert. Ebenfalls nachteilig ist die hohe Agglomerisationsneigung gemahlener Digoxin-Partikel.

Durch Verwendung einer Sprüheinbettung (hochdisperse Verteilung des Glykosids im Träger) lassen sich die genannten Schwierigkeiten vermeiden.

5.3 Entwicklung einer Tablettenrezeptur

5.3.1 Rezeptur und Verarbeitung von Modell-Mischungen

Neben der gewünschten homogenen Wirkstoffverteilung in der einzelnen Tablette war es Ziel der folgenden Untersuchungen Komprimat zu entwickeln, die durch einen optimalen Zerfall von möglichst ≤ 1 min. und eine gute Gewichtseinheitlichkeit von $s_{rel} \leq 1$ % gekennzeichnet sind.

Es ist bekannt (163), daß Tabletten, die mehr als zehn Prozent Methylcellulose enthalten, eine starke Verklebungstendenz zeigen und folglich eine Inhibierung des Desintegrationsprozesses auftritt. Außerdem wird, wie in Punkt 4.4.1 bewiesen, die Wirkstofffreisetzungsgeschwindigkeit vermindert. Bei einem gewählten Sollgewicht von 120 mg und Verarbeitung einer 10proz. HPMC-Einbettung enthält die einzelne Tablette in Ab-

hängigkeit von der Digoxin-Dosierung nur 0,8 bzw. 2,1 % Polymer; somit war mit den genannten Schwierigkeiten nicht zu rechnen.

Zur Einsparung von Digoxin im Rahmen der Preßversuche wurde zunächst eine Phenacetin-Methocel E5-Einbettung benutzt. Dieses "Modellsprühprodukt", das durch Versprühen einer Methanolwässrigen Lösung (1:9) gemäß 4.3.2 hergestellt wurde, enthielt 12,4 % Wirkstoff (Gehaltsbestimmung siehe Anhang) und entsprach in seinen Eigenschaften bezüglich Teilchengröße (50 - 150 μm) und Schüttgewicht einer analogen Digoxin-Einbettung, so daß die beabsichtigten Tablettierversuche mit dieser Substanz sinnvoll und zweckmäßig erschienen.

Als Bestandteil der Grundrezeptur wurde eine geringfügig modifizierte Pulvermischung (16 % Tablettierhilfsmittel T, 84 % Lactose) benutzt, die GERST (239) problemlos auf einer modernen Rundlaufpresse (Fette-Perfecta 2000) verarbeiten konnte.

Rezeptur 1: Wirkstoffdosis 0,1 mg

Sprüheinbettung (Phenacetin-Methocel E5, 12,4 %)	0,672 %	1,613 g
Kollidon CL [®] grob	3,000 %	7,200 g
Pulvermischung	ad 100,000 %	240,000 g

KRIEGER (97) hatte die bevorzugte Eignung von Kollidon CL (quervernetztes N-Vinyl-2-Pyrrolidon) bei der Tablettierung von Sprühprodukten bewiesen, daher wurde dieses Polymer als Sprengmittel eingesetzt. In weiteren Versuchen sollte durch Variation des Trockenbindemittels neben den mechanischen Eigenschaften vor allem der Zerfall der Komprimat beeinflusst werden. Da mikrokristalline Cellulose neben guten Bindeeigenschaften eine zerfallsfördernde Wirkung aufweist (240), wurden verschiedene Avicel[®]-Typen in unterschiedlicher Konzentration getestet. Tabelle 19 faßt die einzelnen hergestellten Modellgrundlagen zusammen.

Tabelle 19 **Modell-Mischungen zur Herstellung niedrig-**
dosierter Tabletten (Direktverpressung)
Wirkstoffgehalt: 0,1 mg

Rezepturbestandteil	R e z e p t u r				
	2	3	4a	4b	4c
Sprüheinbettung (Phenacetin-HPMC E5, 12,4 %)	0,672 %	0,672 %	0,672 %	0,672 %	0,672 %
Aerosil	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %
Magnesiumstearat	1 %	1 %	1 %	1 %	1 %
Kollidon CL ®grob	3 %	3 %	3 %	3 %	3 %
Maisstärke	-	3 %	-	-	-
Tablettierhilfsmittel K	5 %	-	-	-	-
Avicel ® PH 101	-	30 %	-	-	-
Avicel ® PH 102	-	-	10 %	20 %	30 %
Lactose	ad 100 %	ad 100 %	ad 100 %	ad 100 %	ad 100 %

Bei Verarbeitung der Rezeptur 1 wird zunächst die Pulvermischung aus 252 g Lactose und 48 g Tablettierhilfsmittel T in einem Lödige-Pflugscharmischer 3 Minuten bei 200 UpM vermischt. Nach Zugabe der Einbettung und des Sprengmittels zu 288,5 g dieser Mischung werden sämtliche Bestandteile durch ein Sieb (Maschenweite 0,5 mm) gegeben, um eine Zerteilung möglicher Agglomerate zu erzielen. Im Anschluß erfolgt nochmals ein Vermengen des Preßgutes bei 200 UpM. Alle anderen Modellmischungen werden nach dem Sieben 5 Minuten im Pflugscharmischer vermischt (200 UpM).

Die Direkttablettierung wurde bewußt gewählt, da bei einer Granulation der Preßmasse unkontrollierbare Veränderungen der Einbettung bzw. des Wirkstoffes durch Feuchtigkeits- (Rekristallisation) und Wärmeeinfluß (Parakristalle) auftreten können.

Die Verpressung der Modellmischungen erfolgte auf einer instrumentierten Exakta I-Excenterpresse der Firma Fette bei definierter Preßkraft und einer Hubgeschwindigkeit von 54 pro Minute zu flachen, facettierten Tabletten von 7 mm Durchmesser und 120 mg Gewicht (293 K; 29 % r.F.).

5.3.2 Galenische Kennzahlen der Modell-Mischungen

Den Tabellen 20 und 21 können die galenischen Kennzahlen der Preßmassen und der daraus hergestellten Tabletten entnommen werden.

Tabelle 20 Kennzahlen der Pulvermischungen

Rezeptur	1	2	3	4a	4b	4c
Böschungswinkel	56,8 ⁰	52,7 ⁰	58,3 ⁰	49,1 ⁰	53,8 ⁰	52,1 ⁰
Schüttdichte (g/ml)	0,5316	0,54	0,4878	0,6682	0,6248	0,5714
Stampfdichte (g/ml)	0,663	0,7044	0,638	0,75	0,699	0,651
Gleichmäßigkeitskoeffizient n	3,2	3,3	2,19	3,58	3,0	2,62
Korngrößenkennwert d' (mm)	0,17	0,175	0,128	0,158	0,161	0,150

Tabelle 21 Kennzahlen der Versuchstabletten

Rezeptur	1	2	3	4a	4b	4c
Preßkraft (kN)	14,5-18	14,5-18	7,5	17-18	14-15	12
Bruchfestigkeit (N)	25-31	25-27	32-37	25-30	25-28	25-32
Abrieb (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,05
Zerfallszeit (sec)	12	25	11	12	15	13
Durchschnittsgewicht (mg)	121,24	119,73	114,73	117,39	123,95	120,89
rel. Standardabweichung (%)	1,12	1,93	1,69	0,93	0,6	0,66

Die ermittelten Gleichmäßigkeitskoeffizienten n zeigen bei den untersuchten Pulvermischungen eine recht enge Korngrößenverteilung an, so daß die Entmischungsgefahr - bedingt vor allem durch unterschiedliche Partikelgrößen von Wirk- und Hilfsstoffen - gering ist. Alle Rezepturen liefern, obwohl die Böschungswinkel der Mischungen relativ hoch sind, beim Verpressen Komprimat mit zufriedenstellender Gewichtseinheitlichkeit, guten mechanischen Eigenschaften und rasantem Zerfall (12 - 25 sec.). Ein HPMC E5-Zusatz von 0,6 % hat somit keinen negativen Einfluß auf die Desintegration der Tabletten, daher ist mit einer Behinderung der Wirkstofffreisetzung aus der Einbettung (Matrixbildung) nicht zu rechnen.

5.3.3 Verpressung von Modell-Rezepturen auf einer Hochleistungsrundläufermaschine

Im Rahmen der Entwicklung einer Tablettenrezeptur ist es bereits im Anfangsstadium notwendig, praxisbezogene Herstellungsmethoden zu berücksichtigen. Dadurch soll verhindert werden, daß spätere, maschinentechnisch notwendige Änderungen des Preßgutes eine Beeinträchtigung biopharmazeutischer Parameter zur Folge haben. Im vorliegenden Fall - niedrigdosierte feste Darreichungsform - interessierte vor allem die Frage, inwieweit eine Übertragbarkeit der an einer Excenterpresse gewonnenen Ergebnisse auf Produktions-Hochleistungsrundläufermaschinen mit wesentlich höherem Tablettenausstoß (500 000/h) möglich ist.

Um eine Durchführung der Preßversuche auf Rotationsschnellläufern im Technikumsmaßstab vornehmen zu können, war es notwendig eine größere Charge der Modell-Phenacetin-Einbettung herzustellen. Dazu wurde angesichts des enormen Zeitaufwandes beim Sprühen mit den Laborapparaturen ein Zerstäubungstrockner der Firma IWK, Typ 2/10, benutzt. Die Herstellung erfolgte unter den in Tabelle 22 angegebenen Bedingungen, wobei die Partiallösungen (methanolische Phenacetin- und wässrige Methocel E5-Lösung) mittels zweier Schlauchpumpen einer Drei-

stoffdüse zugeführt und durch diese zerstäubt wurden.

Tabelle 22 Sprühbedingungen zur Herstellung von Sprüheinbettungen mit einem IWK-Zerstäubungstrockner*

Sprühtrockner	:	IWK LZT 2/10
Pumpen	:	Verder MP-25-GJ 4
Lösungen	:	10 g Phenacetin/500 ml Methanol 90 g Methocel E5/2000 ml Aqua dest.

Sprühbedingungen:

Düsendruck (Dreistoffdüse)	:	$1,8 \cdot 10^5$ Pa (1,8 bar)
Eingangstemperatur	:	413 - 423 K (140 - 150 °C)
Ausgangstemperatur	:	328 - 333 K (55 - 60 °C)
Luftdurchsatz	:	410 m ³ /h
Ausbeute	:	61 Prozent

Die erhaltene Sprüheinbettung (Phenacetingehalt 9,5 %) entsprach bezüglich Teilchengröße ($\bar{d} = 60 \mu\text{m}$) und Schüttgewicht (0,098 g/ml) der analogen, auf der Laborapparatur gesprühten Einbettung.

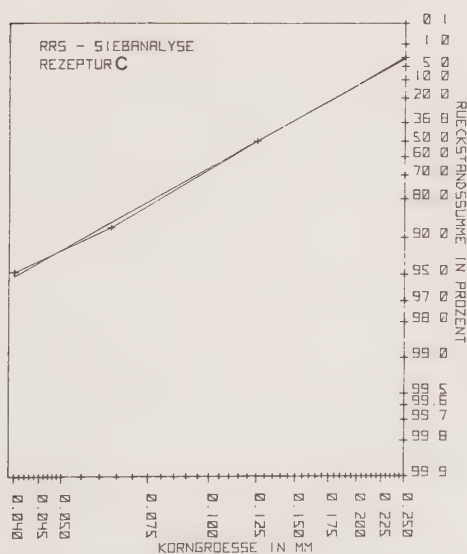
Aus der Tabelle 23 können die Rezepturen der für die Preßversuche benutzten Pulvermischungen entnommen werden. Die Herstellung der Mischungen erfolgte gemäß 5.3.1.

Abbildung 79 gibt die ermittelten Daten der RRS-Siebanalyse für Rezeptur C wieder; die galenischen Kennzahlen der Rezepturen A und B entsprachen denen der Rezeptur 1 und 4a bei den Tablettierversuchen mit der Excenterpresse (5.3.1).

*An dieser Stelle sei Herrn Liebmann, Fa. E. Merck, Darmstadt, für seine freundliche Unterstützung bei den Sprühversuchen gedankt.

Tabelle 23 Rezepturen der Versuchsmischungen

	Rezeptur A Wirkstoff- dosis: 0,1 mg		Rezeptur B Wirkstoff- dosis: 0,1 mg		Rezeptur C Wirkstoff- dosis: 0,25 mg	
	g	%	g	%	g	%
Sprühprodukt -Phenacetin-HPMC E 5, 9,5 %-	42,11	0,8772	21,06	0,8772	26,316	2,193
Kollidon CL grob	144	3	72	3	60	5
Tablettierhilfsmittel T	738,2	15,38	---	---	---	---
Avicel PH 102	---	---	480	20	240	20
Aerosil	---	---	24	1	12	1
Magnesiumstearat	---	---	24	1	12	1
Lactose ad	4800	100	2400	100	1200	100



KENNZEICHNENDER
KORNDURCHMESSER: $\bar{x}$ 146 MM
GLEICHMAESSIGKEITZAHL 2,319
50 PROZENT RUECKSTAND BEI
 $\bar{x}$ 125 MM
RESTVARIANZ BEI WEIBULL-
VERTEILUNG: 2,050
BINOM MITTELWERT: $\bar{x}$ 129 MM
BINOM STANDARDABWEICHUNG:
 $\bar{s}$ 0,059 MM

A SIEBWEITE MM
B PROZENT RUECKSTAND
GEFUNDEN +
C PROZENT RUECKSTAND
BERECHNET

A	B	C
$\bar{x}$ 250	2,78	3,08
$\bar{x}$ 125	47,16	46,70
$\bar{x}$ 063	38,02	36,95
$\bar{x}$ 040	6,80	8,43

Abb. 79 Siebanalyse von Rezeptur C

Preßparameter:

Tablettenmaschine: Schnellaufpresse Fette P 1000 mit Preßkraftüberwachungssystem C.A.S.

Anzahl der Preßwerkzeuge: 28

Stempel: 7 mm flach, facettiert

Fülltrichter: Eckig

Fill-o-matic
(gegenläufige Rührflügel): 38, 40, 60 UpM

10 mm-Füllkurve

Preßzone: 2 mm Eintauchtiefe

Vordruck: Max. 5 kN

Hauptdruck: 7 kN

Matrizentischdrehzahl: 30, 60, 74 UpM

Die Kennzahlen der enthaltenen Tabletten können aus der Tabelle 23 entnommen werden.

Tabelle 24 Kennzahlen der auf einer Fette P 1000 hergestellten Versuchstabletten

Rezeptur	A			B			C
Matrizen- drehzahl (UpM)	30	60	74	30	60	74	74
Leistung (Tabl./h)	50.000	100.000	124.000	50.000	100.000	124.000	124.000
Rührflügel Fill-o-matic (UpM)	38	38	40	38	60	60	60
Bruchfestigkeit (N)	31	27	30	21	17	17	25
Abrieb (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
Zerfallszeit (sec)	40	40	40	120	120	120	180
Durchschnitts- gewicht (mg)	118,89	120,00	119,48	120,12	120,13	119,91	119,39
rel. Standard- abweichung (%)	0,54	0,98	0,89	0,51	0,74	0,96	0,81
Variations- breite (%)	2,94	4,16	3,85	2,91	4,16	4,17	3,6

Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, daß die verwendeten Preßmassen auch bei höchster Drehzahl des Matrizentisches (entspricht einem Tablettenausstoß von 124 000 Tabl./h) einwandfrei verpreßbar sind.

Die Gewichtseinheitlichkeit der hergestellten Tablettenchargen ist durchweg gut ($s_{rel} < 1 \%$), in ihren mechanischen Eigenschaften gleichen sie mit geringen Abweichungen* denen auf dem Excenter verpreßten Komprimaten. Die Zerfallszeiten von max. 3 Minuten - ERWEKA Zerfallstester 310 K Inkubationsmedium Wasser - erfüllen die am Anfang dieses Kapitels gestellte Forderung nach einer raschen Desintegration der Formkörper. Jedoch wird deutlich, daß der erhöhte Celluloseetheranteil von ca. 2 % bei Rezeptur C trotz höherem Sprengmittelgehalt (5 %) zu einer signifikanten Verschlechterung dieses Parameters führt.

5.4 Herstellung und Prüfung der Digoxin-Tabletten (Verpressung auf der Excenterpresse)

Für die Formulierung einer Digoxin-Tablette wurde die Rezeptur 1 entsprechend Rezeptur A der Rotationsschnellläuferversuche ausgewählt, da die nach dieser Rezeptur hergestellten Modell-Tabletten neben einer guten Gewichtseinheitlichkeit den besten Zerfall aller untersuchten Chargen aufwiesen.

Rezeptur:

Digoxin - HPMC E5 (Digoxin)	0,083 %	0,1 mg
1 : 9 (HPMC E5)	0,75 %	0,9 mg
Kollidon CL grob	3 %	3,6 mg
Tablettierhilfsmittel T	15,39 %	18,47 mg
Lactose	80,777 %	96,93 mg
		120,00 mg

*Die etwas geringere Bruchfestigkeit bei hoher Preßgeschwindigkeit ist auf die sehr kurze Druckverweilzeit zurückzuführen.

Die Herstellung der Digoxin-Sprüheinbettung (Wirkstoffgehalt 10,05 %*) sowie die Verarbeitung der Pulvermischung erfolgte analog den bei der Verpressung der Phenacetin-Einbettung beschriebenen Verfahren (5.3.1).

Preßparameter:

Tablettenmaschine	:	Fette Exakta I, instrumentiert
Stempel	:	7 mm flach, facettiert
Preßgeschwindigkeit	:	40 Hub/min.
Preßkraft	:	15 - 18 kN

Tablettenkennzahlen:

Gewicht	:	$\bar{x} = 120,87 \text{ mg}$ $s_{\text{rel}} = 1,2 \%$
Bruchfestigkeit	:	$\bar{x} = 27,5 \text{ N}$ (ERWEKA-Bruchfestigkeitstester)
Friabilität	:	0,1 %
Zerfall	:	15 Sekunden

5.4.1 Prüfung der Gehaltseinheitlichkeit

Die Dosierungsgenauigkeit (content uniformity) ist ein wichtiges Qualitätsmerkmal für einzeldosierte feste Arzneiformen und bedeutet, daß nicht nur der Mittelwert aus einem Mischmuster, sondern auch jeder Wert für den einzelnen Arzneipreßling innerhalb erlaubter Toleranzen des Soll-Wertes liegen muß.

Die berechnete stochastische Homogenität einer Pulvermischung mit niedrigem Wirkstoffgehalt ist nur ein theoretischer Wert und erlaubt keinen Schluß auf die tatsächlichen Verteilungsverhältnisse im Haufwerk. Der Mischvorgang kann von Faktoren wie z.B. Agglomerisationserscheinungen beeinflusst sein, die nicht durch Gleichung 14 erfaßt werden, so daß eine befriedi-

*Gehaltsbestimmung: Dixanthylharnstoff-Methode nach AB 7/DDR

gende Verteilung des Arzneistoffes in der Mischung nicht erreicht wird. Da die Dosierung der Pulvermischung beim Kompressionsvorgang volumenmäßig erfolgt, enthalten die schwereren Tabletten nicht notwendigerweise auch einen höheren Wirkstoffgehalt. Bei niedrigdosierten festen Arzneiformen besteht im Allgemeinen eine stochastische Unabhängigkeit von Arzneistoffgehalt und Tablettengewicht (241). Nach DAB 8 wird bekanntlich nur die Gewichtseinheitlichkeit nicht dagegen die Gehaltseinheitlichkeit überprüft.

Vergleichende Untersuchungen des Deutschen Arzneiprüfungsinstitutes von sieben digoxinhaltigen Fertigarzneimitteln hatten eine ausreichende Dosierungseinheitlichkeit bei allen Präparaten ergeben (242), jedoch zeigten die einzelnen Muster deutlich meßbare Gehaltsunterschiede. Daher wurde eine Prüfung der Einzeldosierungsgenauigkeit der hergestellten Tabletten vorgenommen. Über Digoxin-Tabletten findet man Monographien im Britischen (BP 80), Amerikanischen (USP XX) und Schweizer-Arzneibuch (Pharm. Helv. VI), wobei nur die beiden ersten Vorschriften über die Gehaltseinheitlichkeit niedrigdosierter fester Arzneiformen enthalten. Während die BP 80 für Digoxin-Tabletten eine Schwankung des Wirkstoffgehaltes von $\pm 20\%$ vom Durchschnittsgehalt zuläßt, limitiert die USP XX die Toleranzgrenzen auf $\pm 15\%$ vom deklarierten Soll-Wert.

Zur Bestimmung der Einzeldosierungsgenauigkeit wurden drei Analysenverfahren benutzt:

- A) Dixanthyhlarnstoff-Methode nach AB 7/DDR
- B) Fluorometrische Bestimmung nach USP XX*
- C) HPLC (siehe Anhang)

Die Verfahren erfordern eine spezielle Probenvorbereitung, die im Anhang wiedergegeben ist.

*Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sei für die Benutzung des Zweistrahl-Spektralfluorometers MK 1 der Fa. Kontron gedankt.

Alle drei Methoden liefern gut reproduzierbare Werte, wobei A das praxisnahste, B das aufwendigste, jedoch empfindlichste und C das am einfachsten zu handhabende Analysenverfahren darstellt. Die fluorometrische Bestimmung (B) wurde daher vor allem zur Ermittlung der In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes eingesetzt.

Einzel dosierungs gen au ig ke it der hergestellten Digoxin-Tabletten:

Sollgehalt	:	100 µg Digoxin
Bestimmungsmethode	:	A
Durchschnittsgehalt $\bar{x}$	:	95,63 µg
Standardabweichung s	:	2,67 µg
rel. Standardabweichung s_{rel}	:	2,8 %

Durch die vorgestellte Rezeptur zur Herstellung niedrigdosierter Digoxin-Tabletten sind Komprimat e von guter Gewichts- und Gehaltseinheitlichkeit herstellbar. Die ermittelte relative Standardabweichung von 2,8 % erreicht bei weitem nicht die von der BP 80 erlaubten Toleranzgrenzen (± 20 %). Ebenso werden die Grenzen der USP XX nicht überschritten (± 15 % vom Sollgehalt).

5.4.2 Prüfung des Freisetungsverhaltens

In der Literatur sind häufig Zusammenhänge zwischen der Wirkstoff-Freigabe aus festen Digoxin-Zubereitungen und der Höhe der Serumglykosidkonzentration beschrieben (4,243,244,245,246,247,248). Man fand relevante pharmakokinetische Unterschiede sowohl nach Gabe von Digoxin-Tabletten gleichen Gehaltes verschiedener Hersteller (1,43,249), als auch bei verschiedenen Chargen ein und desselben Produktes (1,249,250,251). Die unterschiedlichen Resorptionsquoten der Präparate wurden mit Schwankungen der Partikelgröße und der dadurch bedingten Auflösungsgeschwindigkeit des Wirkstoffes erklärt. Demgegenüber zeigten Unterschiede im Tablettenzerfall bei anschließender

ungehinderter Lösungsgeschwindigkeit keine Auswirkungen auf die Bioverfügbarkeit des Glykosides (245), so daß die Qualität einer Formulierung durch Bestimmung der Wirkstoff-Libération erheblich zutreffender gekennzeichnet werden kann.

Aufgrund dieser Erkenntnisse enthalten USP XX und BP 80 Vorschriften zur Bestimmung der Auflösungs geschwindigkeit für Digoxin-Tabletten. Danach müssen bei Einhaltung definierter Versuchsbedingungen (z.B. Paddle-Apparatur) 65 % (USP XX) bzw. 75 % (BP 80) Digoxin nach einer Stunde gelöst vorliegen.

JOHNSON und LADER (252) veröffentlichten Untersuchungsergebnisse, wonach Digoxin-Tabletten mit einer Freisetzungsr ate des Wirkstoffes von 75 % in 15 Minuten eine optimale Resorption des Glykosides gewährleisten. SHAW et al. (10) ermittelte Werte von 70 % in 30 Minuten, während GREENBLATT et al. (253) eine Auflösungsrate von 85 % in einer Stunde forderte, um eine gute Bioverfügbarkeit des Digoxins aus festen Zubereitungen sicherzustellen.

Angesichts einer möglichen Korrelation zwischen In-vitro-Freigabegeschwindigkeit und In-vivo-Daten wurden die hergestellten Digoxin-Tabletten in der Paddle-Apparatur der USP XX unter sink-Bedingungen untersucht. Der Konzentrationsverlauf im Auflösungsmedium (1 Tablette in 500 ml 0,1 N HCl, $310 \pm 0,5$ K, 50 UpM) wurde diskontinuierlich durch fluorometrische Messung (Methode B, Anregung: 355 nm, Emission: 480 nm, 1 cm Quarzküvetten) ermittelt und in Abbildung 80 graphisch wiedergegeben. In das Koordinatenkreuz sind auch die Toleranzgrenzen der BP 80 und der USP XX eingezeichnet. Das hergestellte Digoxin-Präparat erreicht die von den Arzneibüchern nach 60 Minuten geforderten Werte bereits nach ca. einer Minute (!). Somit ist der Nachweis erbracht, daß die vorteilhaften Lösungseigenschaften einer Digoxin-Sprüheinbettung durch die anschließende Tablettierung nicht negativ beeinflusst werden.

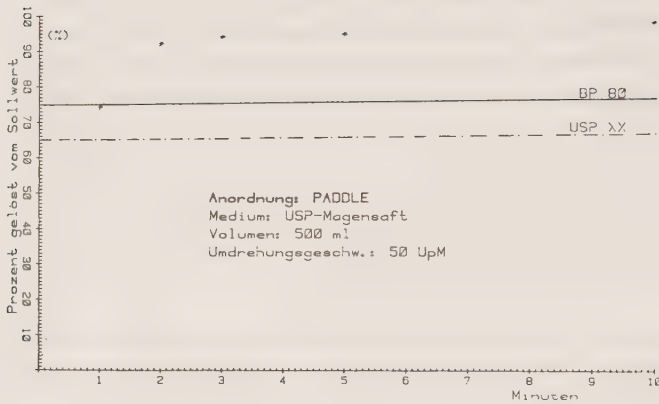


Abb. 80 In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeit der hergestellten Digoxin-Tabletten

Aufgrund der guten Digoxin-Freisetzung müßte der Wirkstoff nach Applikation dieser Tabletten auch optimal bioverfügbar sein.

Von FLASCH, ASMUSSEN und HEINZ wurden sehr hohe Resorptionsquoten (82 %) für Digoxin-Tabletten gefunden, die den Wirkstoff in Form eines Kieselsäuresorbates enthielten (29). Diese Tabletten zeigten bei der Bestimmung der In-vitro-Freisetzungsgeschwindigkeit eine - im Vergleich zu dem von mir hergestellten Präparat - analoge Wirkstoff-Liberation, wie aus Tabelle 25 entnommen werden kann.

Tabelle 25 In-vitro-Daten der untersuchten Tablettenpräparate

Anordnung: Paddle*		Medium: Magensaft*		Volumen: 500 ml	
Umdrehungsgeschwindigkeit: 50 UpM					
Analysemmethode: Fluorometrisch*			Sollwert: 0,1 mg Digoxin		
Freigesetzte Wirkstoffmenge in % nach:					
	1	2	3	5	10 Minuten
Kieselsäure-Matrixtablette	74,92	90,27	94,21	96,41	98,24
Eigenpräparat	74,52	92,38	94,32	95,09	98,09
	Zerfallszeit (Erweka-Zerfallstester)		Content-Uniformity		
Kieselsäure-Matrixtablette** n=10	10 Sekunden		$\bar{x} = 0,0941 \text{ mg}$ $s_{rel} = 3,2 \%$		
Eigenpräparat n=10	15 Sekunden		$\bar{x} = 0,0956 \text{ mg}$ $s_{rel} = 2,8 \%$		

* = nach USP XX

** = Charge 802001

NYBERG (28) veröffentlichte Untersuchungen, wonach die Resorptionsquote des Glykosides unabhängig von der Auflösungs-geschwindigkeit ist, wenn innerhalb von zwei Stunden 90 % des Wirkstoffes freigesetzt werden. Demgegenüber ermittelte WEYERS et al. (254) 1979 bei einer vergleichenden Untersu-chung verschiedener schweizer Digoxin-Präparate konträre Er-gbnisse: Obwohl alle Darreichungsformen ein gleich gutes In-vitro-Freisetzungsverhalten des Wirkstoffes zeigten, erga-ben die einzelnen Muster unterschiedlich hohe Serumglykosid-konzentrationen.

Um diesen Widerspruch zu klären, wurden eigene pharmakokineti-sche Untersuchungen am Kaninchen durchgeführt. Dabei sollte die Korrelierbarkeit von In-vitro und In-vivo-Daten der Kie-selsäure-Matrixtablette und des Eigenpräparates überprüft werden.

6. Pharmakokinetische Untersuchung von Digoxin-Tabletten am Kaninchen

Die Dosis-Wirkungsbeziehung bei einer Arzneitherapie ist in der Regel das Resultat einer komplexen Folge mehrerer Ereignisse. Abbildung 81 zeigt schematisch drei Phasen (255), die ein in fester Form peroral verabreichter Wirkstoff durchlaufen muß, um eine Wirkung zu erzielen.

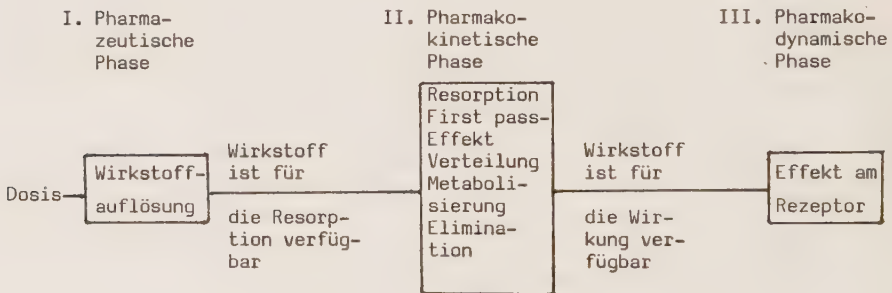


Abb. 81 Schicksal eines Arzneistoffes im Organismus
- modifiziert nach (255) -

Grundgedanke einer Bioverfügbarkeitsstudie ist es daher, genauere, d.h. quantitative Informationen über das Schicksal des Arzneistoffes im Organismus zu erhalten, um nicht nur auf die beobachteten Effekte nach Applikation bestimmter Wirkstoffmengen angewiesen zu sein.

Da die systemische Wirkung eines Arzneimittels im Allgemeinen vom Vorliegen einer ausreichenden Wirkstoffkonzentration im Blut abhängig ist, bestimmt man bei pharmakokinetischen Untersuchungen die Konzentration des applizierten Arzneistoffes vorzugsweise im Blut.

6.1 Versuchsdurchführung

Die Applikation beim Kaninchen erfolgte peroral durch Gabe von zwei Tabletten zu je 120 mg - entsprechend zweimal 0,1 mg Digoxin - unter Nachspülen von 4 ml Wasser. Verluste hierbei wurden nicht beobachtet, so daß davon ausgegangen werden kann, daß die gesamte Dosis von 0,2 mg tatsächlich zugeführt wurde.

Nach bestimmten Zeiten wurden Blutproben entnommen und die Serunglykosidkonzentration mit Hilfe eines Enzym-Immuno-Assays (Merckotest Emit[®]-cad*) bestimmt.

Beim Emit[®]-cad-Digoxin handelt es sich um einen homogenen Enzym-Immuno-Assay. Als Vorteil dieser Methode ist anzuführen, daß im Vergleich zum heterogenen Enzym-Immuno-Assay, gebundenes und ungebundenes Enzym nicht getrennt werden muß (256).

Mit dem Emit[®]-cad-Digoxin-Test wird das gesamte, d.h. sowohl das freie wie proteingebundene Digoxin im Serum erfaßt. Letzteres wird durch Vorbehandlung der Serumprobe mit 0,5 N NaOH freigesetzt. Die so vorbehandelte Probe wird anschließend mit einem Überschuß an spezifischem Antikörper (Reagenz A) versetzt. Das gesamte in der Serumprobe enthaltene Digoxin wird am Antikörper gebunden. Nicht besetzte Bindungsstellen der Antikörper werden mit enzymmarkiertem Digoxin (Reagenz B) belegt, das im Überschuß zugesetzt wird. Im Digoxin-Antikörper-Komplex ist die Aktivität des "Markerenzym"*** weitgehend gehemmt. Nur der freie, nicht antikörpergebundene Anteil von Reagenz B bleibt enzymatisch aktiv und wird photometrisch bestimmt. Die gemessene Enzymaktivität ist daher der Digoxinkonzentration in der Probe direkt proportional.

*Hersteller: SYVA, 3181 Porter Drive, Palo Alto, Calif. USA
Vertrieb : Fa. E. Merck, Darmstadt.

***Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase

Beim Enzym-Immuno-Assay konkurrieren also wie beim kompetitiven Radioimmuno-Test markiertes und nicht-markiertes Hapten um eine bestimmte Menge an Antikörper (256). Die einzelnen Schritte können der folgenden Abbildung 82 entnommen werden.

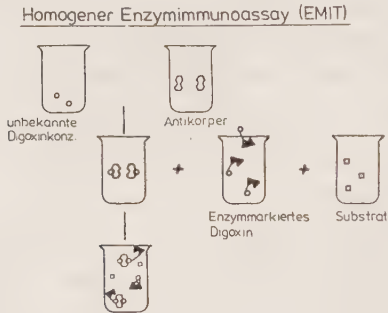


Abb. 82

Schema des homogenen Enzymimmunoassays EMIT
- nach (256) -

Durch Bestimmung der Glykosidkonzentration von Test-Seren* wurde vor jedem "Meßzyklus" die Präzision der Methode ermittelt. Die dabei gemessene Abweichung von 0,048 ng/ml (s_{rel} : 5 %) verdeutlicht die Genauigkeit des Analysenverfahrens.

Bei einigen Versuchsreihen war eine Erstellung der Eichgeraden unmöglich, da die gemessenen Extinktionswerte viel zu tief lagen. Durch systematische Untersuchungen konnte eine Inaktivierung des Antikörpers durch die benutzten Reagenzgläser nachgewiesen werden. Die Möglichkeit einer Bindung von Globulinen (Antikörpern) an Glasoberflächen hatte erst kürzlich TAKAHARU MIZUTANI publiziert (257). Nach Verwendung anderer Reagenzgläser** war eine problemlose Bestimmung der Digoxin-Serumkonzentration möglich.

* TRI-rac[®] Radioassay Controls

** Einmal-Reagenzgläser, Fa. Brand, Art.Nr. 11 4106

6.2 Versuchsaufbau

8 Kaninchen: Weibliche Chinchilla-Bastarde, ca. 3 Monate alt.
Gewicht: 2,3 bis 3,7 kg.

Versuchsgruppen: Zweimal vier Kaninchen, die nach vier Wochen
im cross-over getestet wurden.

Applizierte Formulierung:

2 Tabletten Eigenpräparat (0,2 mg Digoxin).
Der Wirkstoff lag in Form einer 1:9 Sprüh-
einbettung in Hydroxypropylmethylcellulose
(Methocel E5) vor.

2 Tabletten Handelspräparat (0,2 mg Digoxin).
Der Wirkstoff lag in Form eines Kieselsäure-
sorbates vor.

Applikation: Die intakten Tabletten wurden mittels einer Pin-
zette in den Rachen geschoben und mit zweimal
2 ml Wasser nachgespült. Bis zur vierten Stunde
der Blutentnahme wurden den Tieren insgesamt 8 ml
Zuckerwasser zur Volumenauffüllung verabreicht.

Der freie Zugang zu Wasser war während der gesamten Untersu-
chungszeit möglich.

Nach einer Nahrungsabstinenz von ca. 12 Stunden vor Versuchs-
beginn wurden die Tiere erst nach Abschwellen der Blutspiegel
(nach vier Stunden) wieder mit einer Standard-Diät* gefüttert.

Blutentnahme: 1. Versuch: 1,2,3,4,5,6,7,8 Stunden.

2. Versuch: 1,2,3,4,5,6,7,8 Stunden.

Die Blutentnahme erfolgte aus der Ohrvene.

Gehaltsbestimmung:

Unmittelbar nach Blutentnahme wurden die hepari-
nisierten Proben zentrifugiert (3000 UpM, 5 Mi-
nuten), 0,5 ml Serum in Eppendorf-Reaktionsgefäs-
sen pipetiert und bei 253 K (-20 °C) tiefgefro-
ren. Die Serumglykosidkonzentrationsbestimmung
mittels des Enzym-Immuno-Assays erfolgte inner-
halb von 14 Tagen nach den jeweiligen Entnahmen.

*Altromin-Kaninchenfutter zur Haltung.

6.3 Versuchsergebnisse

Abbildung 83 zeigt in graphischer Darstellung die durchschnittlichen Serumglykosidkonzentrationen (ng/ml) nach peroraler Applikation von jeweils 0,2 mg Digoxin über einen Zeitraum von 8 Stunden.

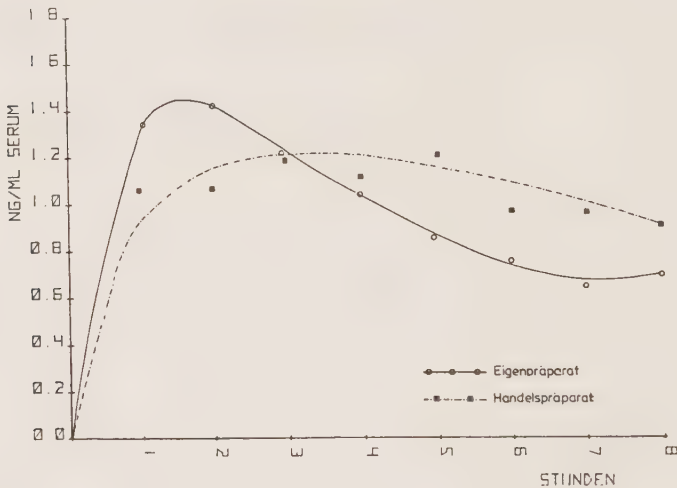


Abb. 83 Zeitlicher Verlauf der Serumglykosidkonzentration nach Applikation von jeweils 0,2 mg Digoxin

Aus dieser Abbildung kann entnommen werden, daß beim Kaninchen die Resorption von Digoxin aus dem Eigenpräparat rascher erfolgt und in den ersten 3 Stunden höhere Serumglykosidkonzentrationen erreicht werden. Nach Applikation von Digoxin-Kieselsäure-Matrixtabletten (Handelspräparat) wird im Vergleich zum Eigenpräparat eine geringere maximale Digoxin-Serumkonzentration und diese auch erst nach längerer Zeit erreicht. Infolge einer langsameren Elimination des Wirkstoffes werden aber höhere Blutspiegel über einen längeren Zeitraum gewährleistet. Diese Tatsache kann auch aus den Tabellen 26 und 27, in denen die einzelnen Meßdaten aufgeführt sind, entnommen und bestätigt werden.

Tabelle 26 Dosisverhältnis (DV) unter Berücksichtigung der Tiergewichte; Eigenpräparat.

Stunden:	1	2	3	4	5	6	7	8	
Tier 1	2,24 kg	<u>3,14</u> *	1,9	1,68	1,74	1,12	1,07	0,93	0,74
Tier 2	2,484 kg	1,8	<u>1,96</u>	1,18	1,12	0,66	0,75	0,52	0,5
Tier 3	2,728 kg	2,32	<u>3,27</u>	1,77	1,36	1,36	1,3	0,82	1,07
Tier 4	2,345 kg	0,7	1,3	<u>2,35</u>	1,8	2,11	1,9	1,64	1,53
Tier 5	3,22 kg	1,6	<u>1,77</u>	1,61	1,05	0,81	0,65	0,56	1,6
Tier 6	2,75 kg	1,5	<u>1,8</u>	1,51	1,24	1,1	1,02	0,9	0,7
Tier 7	3,152 kg	<u>1,58</u>	1,50	1,26	1,1	1,07	1,02	0,95	0,95
Tier 8	3,497 kg	1,98	<u>2,1</u>	1,84	1,31	1,05	0,96	0,88	0,79
Gesamtgewicht	22,416 kg								
$\bar{x}$		1,83	1,95	1,65	1,34	1,16	1,09	0,9	0,99
s		0,71	0,59	0,365	0,286	0,44	0,38	0,34	0,39
s _{rel} %		38,5	30,3	22,15	21,35	37,7	35,3	37,9	39,2

DV = gefundene Serunkonzentration
 applizierte Dosis / kg Körpergewicht

* Die in der Tabelle aufgeführten Werte stellen die mit 10^2 multiplizierten Dosisverhältnisse dar.

Tabelle 27 Dosisverhältnis (DV) der Digoxin-Kieselsäurematrix-Tabletten; Handelspräparat.

Stunden:	1	2	3	4	5	6	7	8	
Tier 1	2,878 kg	1,08 *	1,77	1,73	2,09	4,03	2,73	2,02	1,8
Tier 2	3,098 kg	2,48	2,01	2,31	1,39	1,24	0,85	1,01	1,32
Tier 3	3,705 kg	1,67	1,56	2,5	2,96	2,20	2,4	2,13	2,04
Tier 4	2,833 kg	0,82	0,85	2,83	2,97	- *	1,56	1,7	1,84
Tier 5	2,485 kg	1,3	1,49	0,93	0,49	0,6	0,87	1,33	0,91
Tier 6	2,315 kg	1,74	1,27	1,56	1,33	- **	1,27	0,9	0,81
Tier 7	2,325 kg	1,22	1,16	0,93	0,87	0,95	0,79	0,85	0,67
Tier 8	2,990 kg	1,53	1,79	0,97	1,02	- **	0,79	1,24	1,11
Gesamtgewicht	22,629 kg								
$\bar{x}$	1,48	1,48	1,72	1,64	1,8	1,4	1,4	1,4	1,31
s	0,51	0,38	0,76	0,94	1,38	0,77	0,77	0,49	0,52
s _{rel} %	34,28	25,67	44,1	57,3	(76,62)	54,5	35,63	39,7	

* Siehe Tabelle 26

** In der fünften Stunde wurde jeweils die Applikation der anderen Versuchsgruppe durchgeführt. Daher wurden bei Tier 4 und 6 keine Blutproben entnommen. Die Serumprobe von Tier 8 war stark hämolytisch, eine Bestimmung der Serunglykosidkonzentration war daher nicht möglich.

Angesichts einer Abhängigkeit der Serumglykosidkonzentration vom Körpergewicht (258) wurden die ermittelten Daten als Quotient des Blutspiegelwertes in ng/ml und der applizierten Dosis pro Kilogramm Körpergewicht angegeben.

In den Tabellen 26 und 27 sind auch die Mittelwerte $\bar{x}$, die Standardabweichungen s sowie die relativen Standardabweichungen s_{rel} aufgeführt. Die starken Schwankungen stehen durchaus im Einklang mit vergleichbaren publizierten Versuchsergebnissen.

Angesichts der unterschiedlichen Invasion und Elimination des Wirkstoffes aus beiden Präparaten wurden die Konstanten k_{in} und k_{el} bestimmt. Dabei wurde nach RITSCHER (209) folgende Beziehung unter Zugrundelegung der vereinfachenden Annahme eines Ein-Kompartiment-Modelles benutzt:

$$k_{in/el} = \frac{2,303 \times (\log C_o - \log C_t)}{t_t - t_o} \quad (Gl. 15)$$

bzw.

$$k_{in/el} = \frac{\ln C_o - \ln C_t}{t_t - t_o} \quad (Gl. 16)$$

C_o : Fiktive Digoxin-Serumkonzentration zum Zeitpunkt $t = 0^*$

C_t : Digoxin-Serumkonzentration zum Zeitpunkt $t = t$

Die ermittelten Werte können der Tabelle 28 entnommen werden.

* Graphisch durch Extrapolation der semilogarithmischen Blutspiegelkurve nach $t = 0$ (Schnittpunkt mit Ordinate) ermittelt.

Tabelle 28 Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse

Eigenpräparat		Handelspräparat
Anzahl der Tiere	8	8
Standardabweichung s (DV)	0,28 - 0,71	0,28 - 0,94
rel. Standardabweichung s _{rel} (%)	21,35 - 39,2	25,67 - 57,3 *
t _{max} (h)	1,78	3,5
c _{max} (ng/ml)	1,43	1,2
k _{in} (h ⁻¹)	1,92	1,79
k _{el} (h ⁻¹)	0,144	0,106
t ₅₀ (h)	4,81	6,54
AUC 0-8 h	14,7	14,7

* Die Werte der 5. Stunde wurden nicht berücksichtigt.

t_{max} = Zeit nach der c_{max} erreicht wurde.

c_{max} = Maximale Digoxin-Konzentration im Serum.

t₅₀ = Eliminationshalbwertszeit. Berechnung: $t_{50} = \frac{\ln 2}{k_{el}}$

AUC = Area under the curve = Fläche unter der Serumdigoxinkonzentrations-Kurve.

Berechnung: Trapezregel $0,25_{f0,25} + 0,375_{f0,5} + 0,75_{f1} + 1,5_{f2} + 2_{f4} + 9_{f8}$ (258)

fx = Serumglykosidspiegel zur Zeit x.

6.4 Diskussion der Untersuchungsbefunde

Alle experimentell gewonnenen Versuchsergebnisse (siehe Tabelle 28) sind auf Grund der biologischen Streuung dieser Daten nicht signifikant (F-Test). Trotzdem können aus Tabelle 28 folgende Tendenzen abgeleitet werden:

- 1) Maximale Digoxin-Serumkonzentrationen beim Kaninchen werden nach Applikation von Digoxin-Tabletten, die den Wirkstoff in Form einer 10proz. Digoxin-Methocel E5-Sprüheinbettung enthalten, nach kürzerer Zeit und in höherer Konzentration erhalten als nach Applikation von Digoxin-Kieselsäure-Matrixtabletten.
- 2) Die biologische Verfügbarkeit (AUC) ist bei beiden Präparaten gleich gut, sofern man einen Versuchszeitraum von 8 Stunden und das Versuchsobjekt Kaninchen betrachtet.
- 3) Die höhere Invasions- und Eliminationsgeschwindigkeit des in amorpher Form vorliegenden Wirkstoffes nach Applikation des Eigenpräparates kommt auch in den Werten für die Invasions- und Eliminationskonstanten zum Ausdruck.
- 4) Während das die Sprüheinbettung enthaltende Tablettenpräparat gut reproduzierbare und verhältnismäßig wenig schwankende Blutspiegelwerte liefert, werden in allen Fällen nach der Gabe von Digoxin-Kieselsäure-Matrixtabletten stärkere Schwankungen festgestellt. Das kommt u.a. auch durch die maximalen Blutspiegelwerte, die zwischen 1 und 5 Stunden liegen, zum Ausdruck.

Als Erklärung für die unterschiedliche Elimination von Digoxin aus beiden Präparaten kann die Berechnung des Verteilungsvolumens V nach folgender Beziehung herangezogen werden.

Das Verteilungsvolumen V ist der Quotient aus applizierter Dosis D und fiktiver Anfangskonzentration C_0 (259).

$$V = \frac{D}{C_0} \quad (\text{Gl. 17})$$

Durch Einsetzen der ermittelten Werte in Gleichung 17 ergeben sich folgende Verteilungsvolumina:

	D	C _o	V
Handels- präparat	0,2 mg	1,4 ng/ml	1,4285 x 10 ⁵ ml
Eigen- präparat	0,2 mg	1,9 ng/ml	1,0526 x 10 ⁵ ml

Die totale Wirkstoff-Clearance C_{tot} ist als das Produkt aus Verteilungsvolumen V und Eliminationskonstanter k_{el} definiert:

$$C_{tot} = V \cdot k_{el} \quad (Gl. 18)$$

Unter der Annahme, daß die renale Wirkstoff-Clearance bei den Versuchstieren konstant ist, muß die Eliminationskonstante k_{el} bei unterschiedlichen Verteilungsvolumina verschieden sein.

Anmerkung:

Das Verteilungsvolumen scheint größer als das Gesamtkörpervolumen der Kaninchen zu sein. Als Erklärung hierfür wird lt. Literatur (259) angenommen, daß ein Teil der Substanz im Gleichgewicht zwischen Plasma und Verteilungsvolumen verloren geht. Dies kann z.B. durch Anreicherung an bestimmten Geweben oder Strukturen, wie etwa durch Eiweißbindung, durch Anreicherung in Lipiden oder an Oberflächenstrukturen geschehen.

Die Versuchsergebnisse erbrachten den Nachweis eines unterschiedlichen Resorptionsverhaltens des Wirkstoffes bei Applikation von Tablettenpräparaten mit vergleichbarem In-vitro-Freisetzungsverhalten.

Betrachtet man die Fläche unter der Blutspiegelkurve (AUC 0 - 8 h) als Maß für die Bioverfügbarkeit, dann sind beide Präparate bioäquivalent. Die FDA-Definition bezieht sich indes-
sen nicht nur auf die AUC, sondern sie enthält neben dem Ausmaß $c_{\max}$ auch die Geschwindigkeit $t_{\max}$ als Verfügbarkeits-
parameter. Danach ergeben sich sehr wohl Unterschiede zwi-
schen beiden Darreichungsformen: Nur vom Eigenpräparat kann
angenommen werden, daß Digoxin vorwiegend am Resorptions-
fenster resorbiert wird, während das Handelspräparat auch
noch in den unteren Darmabschnitten absorbiert werden muß.

Je nach Betrachtungsweise lassen sich daher die Versuchser-
gebnisse mit denen von NYBERG als auch mit denen von WEYERS
et al. publizierten in Übereinstimmung bringen (s. 5.4.2).

7. In-vivo-Versuche am Menschen

Angesichts der bei den Tierversuchen ermittelten unterschiedlichen Invasion und Elimination des Glykosides nach Applikation verschiedener Digoxin-Tabletten gleicher pharmazeutischer Verfügbarkeit (In-vitro-Auflösungsverhalten) erschien es sinnvoll, diese Befunde durch humanpharmakokinetische Untersuchungen zu überprüfen. Dabei sollte die **a b s o l u t e** Bioverfügbarkeit des Digoxins durch einen Vergleich der nach peroralen Verabreichung des Wirkstoffes ermittelten Blutspiegelwerte mit denen einer i.v.-Injektion bestimmt werden.

Obgleich im Rahmen dieser Arbeit wegen der geringen Anzahl freiwilliger Probanden nur eine orientierende Bewertung der Bioverfügbarkeit möglich war, erfolgte die Herstellung der Tabletten unter GMP-Bedingungen im Technikumsmaßstab mit folgender Zielsetzung:

- 1) Anpassung der Herstellungstechnologie an die gültigen WHO-Richtlinien.
- 2) Spätere Durchführung* einer In-vivo-Prüfung an einem großen Probanden-Kollektiv unter Verwendung derselben Charge.

*Eine Bestimmung der absoluten Bioverfügbarkeit unter "steady-state"-Bedingungen ist im Carl-Korth-Institut, Erlangen (Leitung: Prof. Dr. E. Lang) geplant.

7.1 Herstellung und Prüfung der Digoxin-Tabletten (Verpressung auf Rundläufer)

Bei der humanpharmakokinetischen Prüfung sollten Tabletten unter Verwendung einer 10proz. Digoxin-Methocel E5-Sprüheinbettung mit einer Dosierung von 0,1 und 0,25 mg getestet werden. Die Herstellung der Einbettung erfolgte nach den in Tabelle 22 angegebenen Bedingungen. Infolge eines während des Sprühprozesses auftretenden Pumpendefektes wurden die beiden Partiallösungen (30 g Digoxin in 3000 ml Methanol; 270 g HPMC E5 in 12 000 ml Wasser) nicht im vorgewählten Verhältnis von 1:4 der Dreistoffdüse zugeführt, so daß ein Produkt mit einem Wirkstoffgehalt von nur 5,5 % anstatt 10 % - wie erwünscht - resultierte. Im weiteren Verlauf der Anfertigung dieser Arbeit bestand jedoch nicht mehr die Möglichkeit einen - für die Verhältnisse eines Hochschul Institutes - so großen Ansatz auf dem IWK-Zerstäubertrockner zu wiederholen, daher wurde diese 5,5proz. Einbettung für die Tablettenherstellung benutzt.

Bei einer Dosierung von 0,25 mg Digoxin enthält eine Tablette 3,6 % Polymer. Dieser relativ hohe Anteil an makromolekularem Träger bedingt normalerweise ungünstige Zerfallszeiten der Komprimata (123), die im vorliegenden Fall wegen der Gefahr der Matrixbildung (4.4) äußerst unerwünscht waren. Daher wurde eine Dosisreduzierung um 20 % vorgenommen, um den Celluloseether-Anteil in den Tabletten auf ein vertretbares Maß zu limitieren.

Rezeptur I

Digoxin-Sollgehalt: 0,08 mg

Ansatzgröße : 4000 g $\pm$ 33 333 Tabletten

Sprüheinbettung (5,5 %) Digoxin	0,07 %	0,08 mg
HPMC E5	1,14 %	1,37 mg
Kollidon CL grob	3 %	3,6 mg
Tablettierhilfsmittel T	15,32 %	18,39 mg
Lactose	80,47 %	96,56 mg
		120,00 mg

Rezeptur II

Digoxin-Sollgehalt: 0,2 mg

Ansatzgröße : 2400 g $\approx$ 20 000 Tabletten

Sprüheinbettung (5,5 %)	Digoxin	0,167 %	0,2 mg
	HPMC E5	2,86 %	3,44 mg
Kollidon CL grob		3 %	3,6 mg
Tablettierhilfsmittel T		15,03 %	18,04 mg
Lactose		78,933 %	94,72 mg
			120,00 mg

Die Verarbeitung der Pulvermischungen erfolgte gemäß 5.3.1; alle Kenndaten entsprachen denen der vergleichbaren Phenacetin-Modell-Mischungen.

Preßparameter:

Tablettenmaschine : Rundlaufpresse Fette P 2
 Anzahl der Preßwerkzeuge : 20
 Stempel : 7 mm flach, facettiert
 Fill-o-matic : 40 UpM
 Matrizentischdrehzahl : 20 UpM $\approx$ 24 000 Tabl./h

7.1.1 Galenische Kennzahlen

Aus Rezeptur I und II resultieren beim Verpressen Komprimat mit guten mechanischen Eigenschaften und kurzen Zerfallszeiten (Tabelle 29). Die ermittelten Werte für die Gewichtseinheitlichkeit waren etwas schlechter als die mit dem Rotations-schnellläufer - Fette Perfekta 1000 - hergestellten analogen Phenacetin-Modelltabletten (5.3.1). Um zu überprüfen, ob der erhöhte Celluloseether-Anteil oder maschinentechnische Gründe für die Abweichungen verantwortlich waren, wurde eine nach Rezeptur I hergestellte Pulvermischung auf der Perfekta 1000 verpreßt. Die Versuchsbedingungen entsprachen der Modell-Mischung, wobei die Matrizentischdrehzahl 74 UpM (maximale Lei-

Tabelle 29 Galenische Kennzahlen von Digoxin-Tabletten

	Durchschnitts- gewicht (mg)	rel. Standard- abweichung (%)	Variations- breite (%)	Zerfall (sec)	Bruchfestig- keit (N)	Abrieb (%)
Eigenpräparat 0,08 mg P 1000	110,20	0,85	3,3	50	28,5	0,1
Eigenpräparat 0,08 mg P 2	121,91	1,73	7,5	20	45	0,1
Eigenpräparat 0,2 mg P 2	121,61	2,83	10,9	180	45	0,1
Kieselsäure- Matrixtablette Ch.-Nr. B 802002	115,36	3,2	11	20	42	0,1
Kieselsäure- Matrixtablette Ch.-Nr. B 003012	115,39	1,69	8	10	22	0,1
Handelspräparat Ch.-Nr. 725290	75,05	1,96	7,9	100	53	0,1
Handelspräparat Ch.-Nr. A4749U	111,14	3,7	12,8	465	33	0,1
Handelspräparat Ch.-Nr. 010665	125,82	1,41	4,8	480	37,5	0,1

stung) betrug. Die Kennzahlen dieser Tabletten sowie diejenigen von 5 Digoxin-Handelsspezialitäten sind ebenfalls in der Tabelle 29 aufgeführt.

Aus dieser Zusammenstellung ist ersichtlich, daß alle Präparate die Anforderungen der Ph.Eur. III ($\pm 7,5$ % Abweichung vom Durchschnittsgewicht) erfüllen und das auf der P 1000 hergestellte Eigenpräparat die beste Gewichtseinheitlichkeit aller untersuchten Muster aufweist.

7.1.2 Gehaltseinheitlichkeit und In-vitro-Auflösungsgeschwindigkeit

Tabelle 30 zeigt die relevanten Kennzahlen der Dosierungseinheitlichkeit von selbst hergestellten Tabletten und untersuchten Handelspräparaten (n = 10).

Tabelle 30 Dosierungsgenauigkeit

Präparat	1	2	3	A	B	C	D	E
$\bar{x}$ (µg)	79,8	197,7	73,4	92,75	252	240,2	233	102,21
s_{rel} (%)	2,1	1,6	1,6	1,7	7,9	7,2	4,88	5,9

In Abbildung 84 sind die Variationsbereiche und die nach der USP XX höchstzulässigen Toleranzgrenzen (± 15 % vom Sollgehalt) dargestellt. Alle untersuchten Darreichungsformen erfüllen die Anforderungen des Arzneibuches, wobei die Eigenpräparate eine durchweg gute content uniformity zeigen.

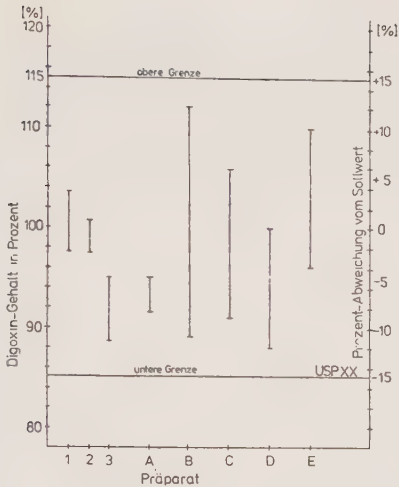


Abb. 84

Variationsbreite der Wirkstoffgehalte der untersuchten Digoxin-Tabletten

Um zu überprüfen, ob die Bestimmung der pharmazeutischen Verfügbarkeit eine Unterscheidung zwischen verschiedenen festen Digoxin-Zubereitungen zuläßt, wurden die einzelnen Tabletten in der USP Paddle-Apparatur geprüft. Die Konzentrationszunahme wurde gemäß 5.4.2 bestimmt. Tabelle 31 faßt die ermittelten Werte bis zur Auflösung von 50 und 90 % (t_{50} bzw. t_{90}) des enthaltenen Wirkstoffes zusammen.

Tabelle 31 In-vitro-Auflösungsverhalten der untersuchten Digoxin-Tabletten

	Paddle-Methode			Obersättigungsverfahren*
	Gehalt (mg)	t_{50}	t_{90}	F
Eigenpräparat	0,08	50"	2'	4,76
Eigenpräparat	0,2	2'	5'	5,10
Kieselsäure-Matrixtablette A	0,1	40"	1'50"	3,69
Kieselsäure-Matrixtablette B	0,25	40"	1'50"	3,80
Handelspräparat C	0,25	1'30"	2'	1,78
Handelspräparat D	0,25	8'20"	> 30'	1,23
Handelspräparat E	0,1	7'40"	> 30'	1,83

— sink-Bedingungen — | — non sink Bedingungen —

* nach ASMUSSEN und HEINZ : 1,5 mg Digoxin/7,5 ml H₂O ; 293 K

Nach der Paddle-Methode ist eine Unterscheidungsmöglichkeit zwischen den ersten 5 aufgeführten Präparaten nur bedingt möglich, da alle Komprimat den Wirkstoff sehr rasch freisetzen. Nur die Muster D und E zeigen eine vergleichsweise langsamere Wirkstoff-Auflösung, erfüllen jedoch wie alle anderen untersuchten Proben die Forderungen der USP XX (65 % nach 1 h).

Ähnliche Ergebnisse fanden ASMUSSEN und HEINZ (260) bei einer vergleichenden Untersuchung von Digoxin-Präparaten mit hoher Bioverfügbarkeit. Auch in dieser Publikation konnte mit der Paddle-Methode lediglich das insgesamt gute Niveau der Liberationseigenschaften festgestellt werden, eine Korrelation der In-vitro-Kurven mit den angegebenen Bioverfügbarkeitsdifferenzen der einzelnen Präparate konnte nicht hergestellt werden. Die genannten Autoren empfahlen deshalb eine Methode zur Differenzierung von Liberationsunterschieden durch Ermittlung des Übersättigungsgrades. Dieses Bestimmungsverfahren kommt den physiologischen Verhältnissen näher als die zuvor diskutierte Paddle-Methode, da bei kurzer Kontaktzeit (5 min.*) sowenig Lösungsmittel vorgelegt wird (7,5 ml), daß die Wirkstoffmenge (1,5 mg Digoxin) nur unter extremer Übersättigung in Lösung gehen kann. In Tabelle 31 sind die gefundenen Übersättigungswerte F ebenfalls aufgeführt und man erkennt, daß durch dieses Verfahren eine bessere Differenzierbarkeit zwischen den einzelnen Mustern gegeben ist. Bemerkenswert sind die Befunde für Präparat C. Obwohl diese Zubereitungsform bei der Prüfung in der Paddle-Apparatur eine rasche Wirkstoff-Freisetzung zeigt, ermittelt man bei der Bestimmung des Übersättigungsgrades nur einen Wert von 1,78. Daraus ergibt sich, daß eine gute Wirkstoff-Freigabegeschwindigkeit unter "sink"-Bedingungen (Paddle-Apparatur, 0,25 mg/500 ml) nicht für die Ausbildung übersättigter Lösungen notwendig ist (siehe auch Präparat E).

*Wegen der Zerfallszeiten der Präparate D und E wurde der Übersättigungsgrad nach einer Inkubationszeit von 5 Minuten bestimmt.

ASMUSSEN und HEINZ (260) konnten nachweisen, daß durch Bestimmung des Übersättigungsverhaltens Hinweise auf dasjenige Präparat mit der besten biologischen Verfügbarkeit gewonnen werden. Da das Eigenpräparat den höchsten Übersättigungsgrad aufweist - $F = 5,1$ gegenüber $F = 3,8$ bei Präparat B mit dokumentierter Bioverfügbarkeit von 82 % - sollte die Resorptionsquote auch sehr hoch liegen.

7.2 Human-Blutspiegel

Ziel der Versuche war wie bereits erwähnt die Bestimmung der absoluten Bioverfügbarkeit an freiwilligen Probanden*.

Dazu wurde zunächst ein i.v. injizierbares Ampullenpräparat (Lanicor 0,25 mg/ml) den nüchternen Personen verabfolgt. Die Blutentnahme erfolgte jeweils nach 10, 20, 30, 60, 90, 120 und 180 Minuten. Eine längere Ausdehnung war nicht erforderlich, da aufgrund der Tierversuche relevante Unterschiede der Blutspiegelkurven bereits in den ersten drei Stunden zu erwarten waren. Nach einer Woche erhielten die ebenfalls nüchternen Probanden 1 und 2 jeweils 2 Tabletten zu 0,2 mg und Proband 3 und 4 jeweils 2 Tabletten zu 0,08 mg Digoxin. Die Blutentnahme wurde analog der i.v.-Injektion vorgenommen. Die weitere Aufarbeitung und die immunologische Gehaltsbestimmung erfolgte in der unter Punkt 6.1 beschriebenen Weise.

Abbildung 85 zeigt die ermittelten Blutspiegelkurven nach i.v.-Injektion und peroraler Gabe. Alle für die Bewertung der Bioverfügbarkeit interessierenden Daten sind durch Angabe der Kennzahlen $c_{\max}$, $t_{\max}$ sowie der Flächenquotienten $AUC_{p.o.} / AUC_{i.v.}$ in Tabelle 32 zusammengefaßt.

*Für die Bereitschaft, als freiwilliger Proband an den Versuchen teilzunehmen danke ich Fräulein Ulrike Gonnermann sowie meinen Kollegen Herrn Erhard Seiller und Claus-Michael Lommer.

Abgesehen von Proband 4, der eine langsamere Invasion aufwies ($t_{\max}$: 60 min.) erreichten die Wirkstoffkonzentrationen ihr Maximum bereits nach ca. 30 Minuten.

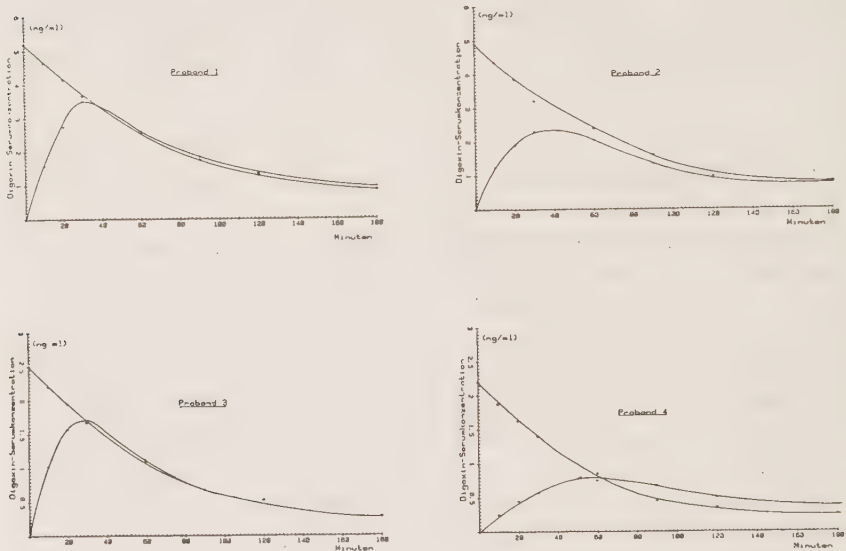


Abb. 85 Blutspiegelkurven nach i.v.- bzw. p.o.-Applikation

Tabelle 32 Bioverfügbarkeit beim Menschen

Proband	applizierte Dosis (mg)	$C_{\max}$ (ng/ml)	$t_{\max}$ (min)	$BV = \frac{AUC \text{ p.o.}}{AUC \text{ i.v.}} \cdot 100$
1	0,4	3,58	30	86,6 %
2	0,4	2,32	35	71 %
3	0,16	1,71	30	88,2 %
4	0,16	0,75	60	75 %
Bioverfügbarkeit im Vergleich zur i.v.-Applikation: $\bar{x} = 80,2 \%$				

Somit besteht eine prinzipielle Übereinstimmung mit den Tierversuchen und es konnte damit ebenfalls eine gegenüber den Literaturangaben (51,52,261) höhere Resorptionsgeschwindigkeit nachgewiesen werden.

Die In-vivo Prüfung am Menschen weist die gute Bioverfügbarkeit der Eigenpräparate von ca. 80 Prozent aus; hierbei ist zu berücksichtigen, daß zur Ermittlung der Werte nur ein Zeitraum von 3 Stunden zugrunde gelegt wurde (s. Proband 4) (262, 263). Dieser Wert von 80 Prozent scheint ein Optimum der peroralen Digoxin-Resorption zu sein, obgleich der In-vitro-Übersättigungsgrad eine weitere Resorptionssteigerung erwarten ließ. Dies steht im Einklang mit dem Postulat von ASMUSSEN und HEINZ (260), wonach bei einer ohnehin hohen Bioverfügbarkeit durch Steigerung der Übersättigungskonzentration keine weitere Verbesserung der Resorptionsquote erzielt werden kann.

Ein Vorteil gegenüber bisher bekannten Präparaten kommt indessen in der hohen Resorptionsgeschwindigkeit zum Ausdruck. Nach übereinstimmender Meinung verschiedener Autoren (28,245) wird für Digoxin gemäß Abbildung 86 ein Zwei-Kompartiment-Modell angenommen.

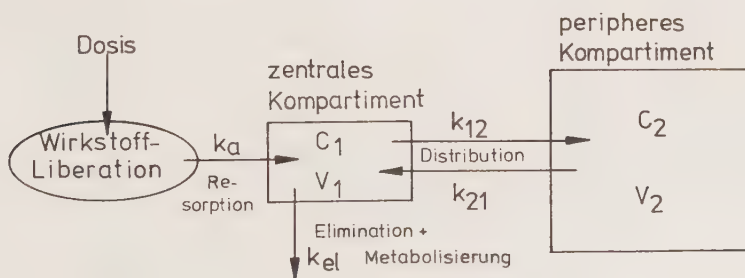


Abb. 86 Zwei-Kompartiment-Modell bei peroraler Verabreichung des Wirkstoffes

Eine Folge der raschen Resorption des Glykosides aus dem Gastrointestinaltrakt ist eine nach kurzer Zeit auftretende hohe Wirkstoffkonzentration im zentralen Kompartiment und damit die Voraussetzung für die sichere pharmakodynamische Wirkung (53,55).

Die für das pharmakokinetische Geschehen relevanten Kennzahlen (264,265) sind in der Tabelle 33 aufgeführt (rechnerische Ableitung: Siehe Anhang).

Tabelle 33 Pharmakokinetische Daten

	Proband 1 applizierte Dosis: 0,4 mg Körpergewicht : 71 kg	Literaturangaben (264) applizierte Dosis: 0,5 mg Körpergewicht : 79 kg
A (ng/ml)	4,8	7,89
B (ng/ml)	0,82	0,85
α (h^{-1})	1,09	1,33
β (h^{-1})	0,026	0,020
k_{12} (h^{-1})	0,825	1,02
k_{21} (h^{-1})	0,193	0,15
k_{e1} (h^{-1})	0,147	0,18
V_c (l/kg)	1,003	0,78
V_{Dss} (l/kg)	4,29	5,95
$V_{D\beta}$ (l/kg)	5,29	6,80
t_{50} (h)	26,7	34,65

8. Stabilitätsuntersuchungen

Bei der Entwicklung einer Arzneiform muß die Stabilität durch Nachweis eines Gehaltes von mindestens 90 % unverändertem Wirkstoff nach dreijähriger Lagerung gewährleistet werden (AMG II, 1978). Ebenfalls ist eine unveränderte Wirkstoff-Freigabe aus der Arzneiform zu fordern.

Zur Beurteilung der Lagerungsfähigkeit der hergestellten Digoxin-Präparate wurde die Stabilität und Liberation nach 3-monatiger Lagerung bei Temperaturen von 313 - 333 K bzw. 15 Monaten bei 293 K geprüft.

Dabei zeigten die nach Rezeptur I hergestellten Tabletten - Wirkstoffgehalt 0,08 mg - eine unveränderte gute In-vitro-Auflösung des Digoxins. Die nach Rezeptur II verpreßte Darreichungsform - Wirkstoffgehalt 0,2 mg - wies nach Lagerung eine etwas geringere Wirkstoff-Freigabegeschwindigkeit auf, deren Ursache auf eine verlängerte Zerfallszeit der Komprimierte von 2 auf 7 Minuten zurückzuführen war (s. Abbildung 87).

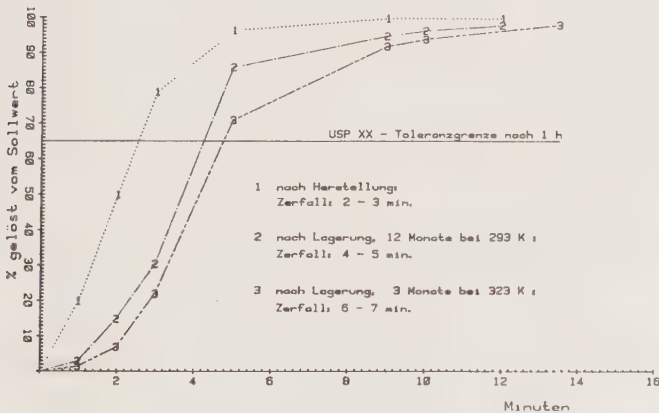


Abb. 87 In-vitro-Freisetzung des Wirkstoffes aus den hergestellten Tabletten nach Lagerung

Da Tabletten der Rezeptur I dieses Phänomen nicht zeigten, muß die verzögerte Desintegration der Formulierung II durch den erhöhten Anteil an HPMC E5 (2,86 % gegenüber 1,14 %) bedingt sein. Zu einem "Verquellen" des Preßlings während der Inkubation kam es jedoch nicht. In allen Fällen zeigten die gelagerten Tabletten den Übersättigungswert von $F = 5,1$.

Durch Untersuchungen mittels HPLC (Bedingungen siehe Anhang) konnte der Nachweis erbracht werden, daß der Wirkstoff in unveränderter Form vorlag.

9. Anhang

9.1 Arbeitsvorschrift: Herstellung von Digoxigenin (266)

Digoxigenin - Aglykon des Digoxins - wurde durch Hydrolyse des Glykosides dargestellt.

2,903 g kristallines Digoxin (getrocknet bei 373 K) wurde 30 Minuten lang unter Rückfluß in einer Mischung aus 290 ml Ethanol (96 % V/V), 290 ml Wasser und 2,25 ml Salzsäure ($d = 1,16$) gekocht. Die Lösung wurde mit Natriumhydroxid-Plättchen neutralisiert, das Lösungsmittel anschließend im Rotationsverdampfer abrotiert. Das Genin trennte sich in Form von prismenförmigen Kristallen ab, die Ausbeute betrug nach dem Trocknen bei 353 K (80 °C) im Vakuumtrockenschrank 1,387 g = 47,8 %.

Der Schmelzpunkt des Digoxigenins betrug nach Umkristallisation in Äthylacetat 495 K (222 °C).

Die Substanz diente als Vergleichsprobe bei der chromatographischen Prüfung auf Zersetzungsprodukte sowie als innerer Standard bei den HPLC-Analysen. Im Gegensatz zum amorphen Digoxin neigte das gesprühte Genin rasch zur Rekristallisation und wandelte sich bereits nach 4 Wochen in die stabile kristalline Form um (s. 2.4.3.2).

9.2 Analysenbedingungen bei der dünnschichtchromatographischen (DC) Untersuchung verschiedener Digoxin-Proben

Verwendete DC-Platten:

DC-Alufolien 20 x 20 cm, Kieselgel 60,
Schichtdicke 0,2 mm
Merck Art.Nr. 5554

Fließmittel 1: Methylenchlorid/Methanol/Formamid 80:19:1

Detektion : Bromkresolgrün (267)

Fließmittel 2: Essigsäureäthylester/Pyridin/Wasser 5:1:4

Detektion : Gesättigte SbCl_3 -Lösung in Chloroform (64).

9.3 Gehaltsbestimmung der Phenacetin-Modell-Sprüheinbettung

10,0 mg Sprühprodukt wurden in 100,0 ml Aqua dest. unter Rühren gelöst (293 K). Die Phenacetin-Bestimmung erfolgte spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 246 nm gegen eine wässrige Methocel E5-Lösung (9 mg/100 ml).

$E_{1\%}^{1\text{cm}}$: 620 (246 nm).

9.4 Gehaltsbestimmung der Digoxin-Sprüheinbettung

Methode: Dixanthyhlarnstoff-Methode nach AB 7/DDR.

250,0 mg Sprühprodukt wurden in 25,0 ml Chloroform/Methanol 3:1 gelöst. 5,0 ml dieser Lösung wurden mit demselben Lösungsmittel auf 50,0 ml ergänzt. Von dieser Lösung wurden 0,5 ml auf dem Wasserbad zur Trockene eingedampft und im Vakuumtrockenschrank bei 26,66 Pa 10^2 (20 Torr) und 313 K (40 °C) nachgetrocknet. Zum verbleibenden Rückstand wurden 10,0 ml Dixanthyhlarnstoff-Reagenzlösung pipettiert; diese Lösung wurde dann 20 Minuten lang im Wasserbad bei 333 K (60 °C) stehen gelassen. Anschließend wurde der Ansatz 5 Minuten im Eiswasser und 10 Minuten lang bei Raumtemperatur temperiert. Die spektralphotometrische Messung erfolgte in einer 1 cm-Küvette bei einer Wellenlänge von 530 nm gegen die gleichbehandelte Reagenzlösung. Der Digoxingehalt wurde aus einer vorher aufgestellten Eichkurve entnommen.

9.5 Einzeldosierungsgenauigkeit der Digoxin-Tabletten

Zur Bestimmung der "content-uniformity" wurden 3 Analysenverfahren benutzt:

- A) Dixanthylharnstoff-Methode nach AB 7/DDR (s. 9.4)
- B) Fluorometrische Bestimmung nach USP XX
- C) HPLC

Die Probenvorbereitung erfolgte dabei unterschiedlich und ist in der folgenden Zusammenfassung wiedergegeben.

Methode	Probenvorbereitung
A	Die Tablette wurde in 15 ml Wasser gegeben, die wässrige Dispersion dreimal mit je 5 ml Chloroform ausgeschüttelt. Die vereinigten Chloroformauszüge wurden auf dem Wasserbad eingedampft, der Rückstand nach Vorschrift des Arzneibuches bestimmt.
B	Die Tablette wurde in einer Mischung aus 5 ml Wasser und 20 ml Ethanol gegeben und 20 Minuten lang geschüttelt. Anschließend wurde mit Wasser auf 100,00 ml aufgefüllt. Nach Filtration (Membranfilter 0,45 µm) einer entsprechenden Menge erfolgt die Bestimmung gemäß USP XX.
C	Mittels Glaskugeln wurde die Tablette in 4 ml Methanol 5 Minuten lang dispergiert. Die ungelösten Bestandteile wurden abzentrifugiert (10 Minuten bei 15000 UpM) und die Digoxinkonzentration direkt mittels HPLC bestimmt. Die methanolische Lösung enthielt eine definierte Menge Digoxigenin als innerer Standard.

Methode C: HPLC-Analysenbedingungen

Einspritzmenge:	20 μ l
Fließmittel A :	Methanol 55 %
Fließmittel B :	Wasser 45 %
Flußrate	: 2,5 ml/min.
Detektion	: UV bei 220 nm
Säule	: Li Chrosorb RP 18, 10 μ m 250 mm x 3 mm i.D.
Innerer Standard:	50 μ g/ml Digoxigenin
Äußerer Standard:	50 μ g/ml Digoxin
Retentionszeiten und -volumen:	
Digoxigenin	: 1'51'' 4,625 ml
Digoxin	: 6'50'' 17.08 ml

9.6 Gleichgewichtsdialyse

Die Gleichgewichtsdialyse erfolgte bei $310 \pm 0,1$ K (37°C) unter ständiger Rotation der aus PTFE bestehenden Zelle (Durchmischung durch eingeschlossene Luftblasen). Die Gleichgewichtseinstellung war in allen Fällen nach 72 Stunden erfolgt.

Zelleninhalt : 5 ml

Dialysiermembran: Spectrapor Typ 3 (Regeneratcellulose)

Ausschlußgrenze 3500 (Mol.-Gew.), vertrieben durch Bachofer GmbH & Co. KG, Reutlingen.

Ansatz: 3,5 mg Digoxin in 100 ml Wasser

3,5 mg bzw. 31,5 mg Kolloid in 100 ml Wasser, analog dem Wirkstoff-Hilfsstoff-Verhältnis in einer Digoxin-Kolloid 1:1 bzw. 1:9-Einbettung.

9.6.1 Bestimmung der Sättigungskonzentration verschiedener Digoxin-Proben

Gleichzeitig mit den Dialyse-Versuchen wurden in derselben Apparatur verschiedene Digoxin-Proben 36 Stunden lang geschützt. Dabei wurden 25 mg des Wirkstoffes in 25 ml Wasser dispergiert; die Dispersion befand sich in Injektionsfläschchen, die anstatt der PTFE-Zellen in das Gestell der Dialysier-Apparatur eingespannt waren.

Nach 36 Stunden wurden jeweils 10 ml der verschiedenen Proben mittels eines Membranfilters (0,45 µm) filtriert und der Digoxin-Gehalt spektralphotometrisch bei einer Wellenlänge von 220 nm direkt bestimmt ($E_{1\%}^{1\text{cm}}$: 244 (220 nm))

9.7 Untersuchungen an Schüttgütern und Tabletten

Schüttdichte: Die Schüttdichte wurde nach DIN 53 468 unter Verwendung der vorgeschriebenen Apparatur ohne weitere Vorbehandlung des Materials bestimmt.

Stampfdichte: Die Bestimmung der Stampfdichte erfolgte nach DIN E 53 194 unter Verwendung der vorgeschriebenen Apparatur ohne weitere Vorbehandlung der Probe.

Böschungswinkel:

Die Bestimmung erfolgte auf einem Zylinder mit einem Radius von $r = 25$ mm. In ein aufgesetztes Rohr mit einem Innendurchmesser von 25,2 mm wurden ca. 100 g Material locker eingefüllt und aus der Höhe des nach vorsichtigem Abziehen des Rohres entstehenden Pulverkegels der Böschungswinkel nach

$$\tan \alpha = \frac{h}{r} \quad (Gl. 19)$$

errechnet. Es wurde jeweils der Mittelwert aus 10 Bestimmungen angegeben.

Bruchfestigkeit: Die Tabletten wurden mit Hilfe eines Erweka-Bruchfestigkeitstesters untersucht (Mittelwert aus 10 Messungen).

Abrieb: Je 10 g Tabletten wurden im Roche-Friabilator geprüft (100 Umdrehungen, 4 Minuten).

Zerfallszeit: Die Bestimmung der Zerfallszeit erfolgte in allen Fällen nach der in der Ph.Eur. III angegebenen Vorschrift.

Die statistischen Parameter der erhaltenen Tabletten wurden nach folgenden Gleichungen berechnet:

Durchschnittsgewicht $\bar{x}$:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum x_i \quad (\text{mg}) \quad (\text{Gl. 20})$$

x_i = Einzelgewichte; n = Anzahl der Werte

Standardabweichung s :

$$s = \sqrt{\frac{(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}} \quad (\text{mg}) \quad (\text{Gl. 21})$$

Relative Standardabweichung s_{rel} :

$$s_{\text{rel}} = \frac{100 \cdot s}{\bar{x}} \quad (\%) \quad (\text{Gl. 22})$$

9.8 Mathematische Ableitungen zur Berechnung pharmakokinetischer Parameter bei Annahme eines Zwei-Kompartiment-Modell

1) Berechnung der Blutspiegelkurve:

$$C_c = A \cdot e^{-\alpha \cdot t} + B \cdot e^{-\beta \cdot t} \quad (\text{Gl. 23})$$

C_c = Konzentration des Arzneistoffes im Serum zum Zeitpunkt $t = c$

A, B = Schnittpunkte mit der Konzentrations-(y)-Achse

α, β = hybride Geschwindigkeitskonstanten

2) Blutspiegelkonzentration zum Zeitpunkt $t = 0$:

$$C_c^0 = A + B \quad (\text{Gl. 24})$$

3) Geschwindigkeitskonstanten:

$$\alpha + \beta = k_{12} + k_{21} + k_{el} \quad (\text{Gl. 25})$$

$$k_{el} = \frac{C_c^0}{A/\alpha + B/\beta} \quad (\text{Gl. 26})$$

$$k_{12} = \frac{A \cdot B (\beta - \alpha)^2}{C_c^0 (A \cdot \beta + B \cdot \alpha)} \quad (\text{Gl. 27})$$

$$k_{21} = \frac{A \cdot \beta + B \cdot \alpha}{C_c^0} \quad (\text{Gl. 28})$$

k_{el} : Eliminationskonstante

k_{12} : Verteilungskonstante vom zentralen zum peripheren Kompartiment

k_{21} : Verteilungskonstante vom peripheren zum zentralen Kompartiment

4) Biologische Halbwertszeit t_{50} :

$$t_{50} = \frac{\ln 2}{\beta} \quad (\text{Gl. 29})$$

5) Volumen des zentralen Kompartimentes V_c :

$$V_c = \frac{D}{C_c^0} \quad D = \text{Dosis} \quad (\text{Gl. 30})$$

6) Scheinbares Volumen beim "steady-state"-
Gleichgewicht V_{Dss} :

$$V_{Dss} = \frac{k_{12} + k_{21}}{k_{21}} \cdot V_c \quad (\text{Gl. 31})$$

7) Extrapoliertes scheinbares Verteilungsvolumen V_D :

$$V_D = V_c \cdot \left(1 + \frac{k_{12}}{k_{21} - \beta} \right) \quad (\text{Gl. 32})$$

9.9 Verwendete Geräte:

Differentialthermoanalyseapparatur: Mettler TA 2000 (B)

Mikrowaage: Mettler ME 22

Tieftemperatureinrichtung

Einwaage 3 - 16 mg

Heizrate : 2 - 20 K/min.

Meßbereich : 100 μ V

Probenbehälter : Alutiegel, Deckel perforiert, 40 bzw. 160 μ l

Referenz : Alutiegel, Deckel perforiert, 40 bzw. 160 μ l

Spülgas : Stickstoff (nachgereinigt), 25 ml/min.

Pflugscharmischer:

Lödige M 5 GR, mit DISCO-Verstellgetriebe.

Plotter:

Hewlett Packard Typ 7225 A.

Polarplanimeter:

Type 30 139, A. Ott, Kempten.

Rasterelektronenmikroskop:

Typ: Jeol JSM - U 3 Scanning Electron Microscope,

Hersteller: Japan Electron Optics Laboratory Co. Ltd., Tokyo.

Sputter-Anlage:

Hersteller: Fa. E. Leitz, Wetzlar

Glühkathode: Au

Heizstrom: 1,5 mA

Spülgas: Argon

Präparation: 5 Minuten bei 13,3 Pa

Rechner:

Hewlett Packard Typ 9815 A

MINC 11 der Fa. Digital Equipment Corp.

Retsch-Mörser-Mühle:

Mikro-Schnellmühle Typ MS, Best.Nr. 400

Röntgendiffraktometer:

Philips, Röntgengenerator PW 1730, Vertikalgoniometer PW 1050

mit Schrittmotor und Steuereinheit PW 1394, Proportionalzähl-

rohr PW 1965/60, Verstärkereinheit PW 1390 mit Impulshöhen-

diskriminator, Recorder PM 8203, Röntgenröhre PW 2233/20,

Focus N, Anodenmaterial Kupfer, Cu-K_α-Strahlung, $\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$.

Sonderzubehör:

TTK-Röntgen-Vakuumkamera für mittlere und tiefere Temperaturen,

Kat.Nr. 25 100 und TTK-Heizregler, Kat.Nr. 25 110 der Fa. A.

Paar K.G. Graz, Austria.

Anodenspannung	: 40 kV
Heizstrom	: 30 mA
Meßbereich	: Rechner gesteuert
Winkelgeschwindigkeit	: $0,02^\circ/\text{sec}$
Dämpfung	: 1 sec
Filter	: Nickel im Primärstrahl

Zur kontinuierlichen röntgendiffraktometrischen Verfolgung der Rekristallisation von amorphem Digoxin wurde der in Abbildung 88 wiedergegebene Probenträger benutzt.

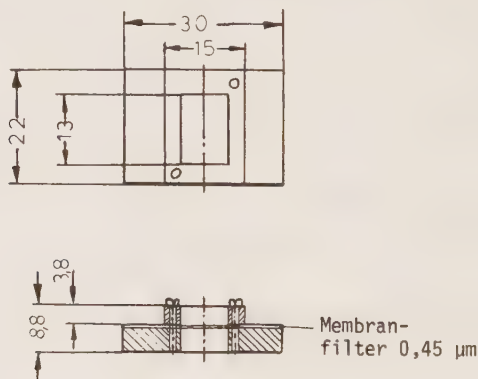


Abb. 88 Verwendeter Probenträger zur kontinuierlichen Ermittlung der Rekristallisation von amorphem Digoxin (4.5.2)

Schlauchpumpe:

Desaga PLG-Vielfach-Schlauchpumpe Typ 13 21 00 (verwendet zur Freisetzungsprüfung).

Siebmaschine:

Fritsch-Pulverisette mit folgenden Siebeinsätzen: 1000, 500, 250, 125, 63 und 40 µm; 200 mm Siebbodendurchmesser.

Spektralfluorometer:

Typ MK 1 der Firma Kontron.

Spektralphotometer:

Beckman Instruments, Modell 24 mit UV-Zusatzausrüstung,
 Sipper-System und Schreiber;
 Uvicon 720 LC der Fa. Kontron.

Sprühtrocknungsanlage:

Büchi 190, Mini-Spray Dryer, Fa. Büchi, CH-Flawil.
 Mini-Spray H0, Gastaldi FSM, Mailand.

Trägerfrequenzmeßbrücke:

Philips Typ PR 9307 (verwendet für die Trübungsmeßapparatur).

Thermogravimetrieapparatur:

Mettler-Thermoanalysenwaage HE 20, Steuergerät BE 20,
 X-Y-Schreiber Houston Omnigraphic 2000.

Einwaage	:	ca. 65 mg
Heizrate	:	5 K/min.
Meßbereich BE 20	:	0,1 g
Meßbereich x-Achse:		100 uV/cm
Meßbereich y-Achse:		5 mV/cm = 0,5 mg/cm
Spülgas	:	Stickstoff, nachgereinigt

Zentrifuge:

Typ 8590 mit Steuer-Gerät, Fa. Heraeus, Hanau.

9.10 Verwendete Materialien

Aerosil 200, Degussa, Frankfurt/Main.
Avicel PH 101, PH '102, American Viscose Corporation,
Vertrieb durch Lehmann & Voss & Co., Hamburg.
Dextran 40, 60, Knoll AG, Ludwigshafen.
Digoxin, E. Merck, Darmstadt, Art.Nr. 3047.
Galaktomannan 7, 90, Meyhall Chemical AG, CH-Kreuzlingen.
Gelatine, Andreae Noris Zahn AG, Frankfurt.
Gummi arabicum, Andreae Noris Zahn AG, Frankfurt.
Hydroxypropylmethylcellulose, Methocel E5, 15, 50, DOW
Chemical GmbH, 2160 Stade-Brunshausen.
Kollidon CL grob, BASF, Ludwigshafen.
Lactose, Spezialsorte zur Tablettierung, E. Merck, Darmstadt,
Art.Nr. 8195.
Magnesiumstearat, E. Merck, Darmstadt, Art.Nr. 5876.
Maisstärke, Andreae Noris Zahn AG, Frankfurt.
Methylcellulose, Methocel A 15, 4 C, DOW Chemical GmbH,
2160 Stade-Brunshausen; Viskontran K 11 und Culminal 25 S,
Henkel & Cie. GmbH, Düsseldorf.
Polyäthylenglykol 20000, Hoechst AG, Frankfurt.
Polyvinylpyrrolidon (Kollidon 25), BASF, Ludwigshafen.
Stickstoff, nachgereinigt (O_2 -Gehalt: 3 Vpm), Linde AG,
Nürnberg.
Tablettierhilfsmittel K, E. Merck, Darmstadt, Art.Nr. 8197.
Tablettierhilfsmittel T, E. Merck, Darmstadt, Art.Nr. 8198.

10. ZUSAMMENFASSUNG

Digoxin, ein Herzglykosid mit äußerst geringer therapeutischer Breite gilt u.a. infolge seiner schlechten Wasserlöslichkeit als Prototyp eines Arzneimittels mit Bioverfügbarkeitsproblemen (Resorptionsquote 50 - 82 %). Gegenstand der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung von Tabletten, die den Wirkstoff in energiereicher und stabiler Form enthielten. Durch verfahrenstechnische Maßnahmen sollte eine optimale Bioverfügbarkeit gewährleistet und gleichzeitig eine Erhöhung der Therapiesicherheit bei peroraler Applikation des Glykosides erreicht werden.

Zunächst war es notwendig, die in der Literatur beschriebenen Unterschiede im Schmelz- und Auflösungsverhalten, insbesondere die Frage nach einer möglichen Polymorphie des Wirkstoffes zu klären. Es wurden teilkristalline und amorphe Substanzproben dargestellt und durch mehrere physikalische Untersuchungsmethoden charakterisiert. Als Ergebnis dieser umfangreichen Untersuchungen gelang der Nachweis parakristalliner Zustandsformen. Vor allem aus amorphem Material, das bevorzugt durch Sprühtrocknung einer Lösung zugänglich war, konnten tribomechanisch mehrere solcher Formen erzeugt und gekennzeichnet werden. Diese Ordnungen, die auch thermotrop induzierbar sind, wurden als Gitterstörungen des Digoxin-Kristalles interpretiert und zeigten ein für flüssig-kristalline Mesophasen beschriebenes Verhalten.

Durch Versprühen des Wirkstoffes in Anwesenheit von verschiedenartigen indifferenten makromolekularen Trägersubstanzen aus Chloroform-methanolischer Lösung (7:3) konnten Systeme entwickelt werden, die das Glykosid in röntgenamorpher Form enthielten und bei der Inkubation in Wasser im Vergleich zu kolloidfreien Digoxin-Sprühprodukten hochübersättigte stabile Lösungen ($Q = 24$) ergaben. Dabei erwiesen sich Celluloseether vom Typ der MC bzw. HPMC mit einem Molekulargewicht von 5000 - 50000 wegen der guten Inhibierung der Rekristallisation des

Wirkstoffes als optimale Einbettungsmedien.

Der technischen Gewinnung solcher Substanzen stand jedoch der Einsatz von chlorierten Kohlenwasserstoffen, d.h. Lösungsmitteln, die nicht als toxikologisch indifferent gelten, im Wege. Es mußte daher die Aufgabe gelöst werden, röntgenamorphe Sprühtrocknungsprodukte ohne prohibitiv erscheinende Lösungsmittel herzustellen. Durch Versprühen zweier Partiallösungen - methanolische Digoxin- und wässrige Kolloidlösung -, die unmittelbar vor oder in einer Düse vereinigt werden, z.B. mittels einer Dreistoffdüse, waren Präparate herstellbar, die analoge physikalisch-chemische Eigenschaften im Vergleich zu den aus organischen Lösungsmitteln gewonnenen Einbettungen aufwiesen.

Ein "Screening" von potentiell geeigneten makromolekularen Trägern war durch kontinuierliche Messung der Trübungsgeschwindigkeiten bei der Ausfällung von zunächst gelöstem Digoxin in wässrigen Lösungen möglich. Auch diese Meßmethode bewies die Überlegenheit der Celluloseether gegenüber anderen Polymersubstanzen (PVP, PEG), so daß eine 10proz. Digoxin-HPMC E5-Sprüheinbettung für die Weiterverarbeitung ausgewählt wurde.

Angesichts der grundsätzlichen Schwierigkeiten, hochwirksame Arzneimittel in niedriger Dosierung zu Tabletten mit guter "content uniformity" bei optimaler Wirkstoff-Liberation zu verarbeiten, wurde im weiteren Verlauf der Arbeit eine direktverpressbare Pulvermischung entwickelt. Zur verfahrenstechnischen Optimierung der Tablettenrezeptur erfolgte zunächst die Verarbeitung einer 10proz. Phenacetin-Modell-Sprüheinbettung. Die damit hergestellten Preßmassen waren auf einer modernen Hochleistungsrundlaufpresse mit ausgezeichneter Gewichtseinheitlichkeit (s_{rel} : 0,9 %) bei maximaler Umdrehungsgeschwindigkeit des Matrizentisches (74 UpM) verpressbar.

Versuche unter Verwendung einer 10proz. Digoxin-HPMC E5-Sprüheinbettung zeigten analoge Ergebnisse, wobei die ermittelten Werte für die Dosierungsgenauigkeit bei weitem nicht die Grenzen der BP 80 bzw. USP XX erreichten.

Die biopharmazeutisch relevanten Eigenschaften derartiger Tabletten konnten durch In-vivo-Studien am Kaninchen im Vergleich zu einem Handelspräparat, das den Wirkstoff in Form eines Kie-selsäuresorbates enthält, nachgewiesen werden. Obwohl beide Präparate eine gleich gute In-vitro-Freisetzung des Wirkstof-fes gewährleisten, wurden nach Applikation des Eigenpräparates höhere Digoxin-Serumkonzentrationen nach kürzerer Zeit ermit-telt.

Diese Tatsache bestätigte sich bei der anschließenden orientie-renden Prüfung der absoluten Bioverfügbarkeit am Menschen: Eine Resorptionsquote von 80,2 % bei peroraler Applikation konnte enzymimmunologisch ermittelt werden.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1) Lindenbaum, J., M.H. Mellow, M.O. Blackstone und V.P. Butler,
N. Engl. J. Med. (285), 1344-1347 (1971).
- 2) Manninen, V., J. Melin und G. Härtel,
Lancet (1971), 2, 934-935.
- 3) FDA Drug Bulletin 21.10.1971, Seite 2.
- 4) Fraser E.J., R.H. Leach, J.W. Poston, A.M. Bold,
L.S. Culank und A.B. Lipede,
J. Pharm. Pharmacol. 25, 968-973 (1973).
- 5) FDA's Bioavailability Bioequivalence Requirements,
veröffentlicht in "The Gold Sheet" 12 (1976).
- 6) Greff, K., D. Hafner, H. Strobach und K.E. Wirth,
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 27, 2358-2364 (1977).
- 7) Wichtl, M.,
Pharm. Unserer Zeit 2, 33-45 (1978).
- 8) Shaw, T.R.D., M.R. Howard und J. Hamer,
Br. Heart J. 36, 85-89 (1974).
- 9) Shaw, T.R.D., K. Raymond, M.R. Howard und J. Hamer,
Br. Med. J. (4), 763-766 (1973).
- 10) Shaw, T.R.D., K. Raymond und H. Greenwood,
Postgrad. Med. J. 50, 55-61 (1974).
- 11) Johnson, B.F., A.S.E. Fowle, S. Lader, J. Fox und A.D. Munro-Faure,
Br. Med. J. (4), 323-326 (1973).
- 12) Falch, D., A. Teien und C.J. Bjerkelund,
Br. Med. J. (1), 695-697 (1973).
- 13) Munro-Faure, A.D., A.S.E. Fowle, J. Fox, B.F. Johnson und S. Lader,
Postgrad. Med. J. 50, 14-18 (1974).

- 14) Cowan, D.A. und A.H. Beckett,
Postgrad. Med. J. 50, 52-55 (1974).
- 15) Lozinski, E.,
Can. Med. Assoc. J. 83, 177-178 (1960).
- 16) Eadie, M.J., J.M. Sutherland und J.H. Tyrer,
Med. J. Aust. (2), 515 (1968).
- 17) Tyrer, J.H., M.J. Eadie, J.M. Sutherland und W.D. Hooper,
Br. Med. J. (4), 271-273 (1970).
- 18) Lund, L.,
Eur. J. Clin. Pharmacol. 7, 119-124 (1974).
- 19) Glazko, A.J., A.W. Kinkel, W.C. Alegnani und E.L. Holmes,
Clin. Pharmacol. Ther. 9, 472-483 (1968).
- 20) Aguiar, A.J., L.M. Wheeler, S. Fusari und J.E. Zelmer,
J. Pharm. Sci. 57, 1844-1850 (1968).
- 21) Brice, G.W. und H.F. Hammer,
J. Am. Med. Assoc. (208), 1189-1190 (1969).
- 22) Barr, W.H., L.M. Gerbracht, K. Letcher, M. Plant und
N. Strahl,
Clin. Pharmacol. Ther. 13, 97-108 (1972).
- 23) Campagna, F.A., G. Cureton, R.A. Mirigian und E. Nelson,
J. Pharm. Sci. 52, 605 (1963).
- 24) Levy, G., A. Hall und E. Nelson,
Am. J. Hosp. Pharm. 21, 402 (1964).
- 25) Pentikäinen, P., S.H. Wan und D.L. Azarnoff,
Am. Rev. Respir. Dis. 108, 1340-1347 (1973).
- 26) Federal Register 15, 22.01.1974, Seite 2471-2479.
- 27) Thoma, K.,
Österr. Apoth. Ztg. 32, 157-166 (1978).
- 28) Nyberg, L.,
Acta Pharmacol. et Toxicol. 40, 1-48 (1977).
- 29) Flasch, H., B. Asmussen und N. Heinz,
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 28, 326-330 (1978).

- 30) Apotheker und Markttransparenz, Schriftenreihe der Bay. Landesapothekerkammer, Heft 16, Seite 27.
- 31) Forth, W., D. Henschler und W. Rummel, Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie, 3. überarbeitete Auflage, Bibliographisches Institut Mannheim-Wien-Zürich (1980).
- 32) Holland, W.C., R.L. Klein und A.H. Briggs, Molekulare Pharmakologie, S. 167, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1967).
- 33) Kuschinsky, G. und H. Lüllmann, Pharmakologie, 6. Auflage S. 49, Georg Thime Verlag Stuttgart (1974).
- 34) Doering, W. und E. König, Dtsch. med. Wschr. 102, 1-7 (1977).
- 35) Lehmann, H.U., ref. in Dtsch. Apo. Ztg. 120, 1463 (1980).
- 36) Chamberlain, D.A., R.I. White, M.R. Howard und T.W. Smith, Br. Med. J. (3), 429-432 (1970).
- 37) Ochs, H.R. et al., Eur. J. Clin. Pharm. 19, 53 (1981).
- 38) Smith, T.W. und E. Haber, J. clin. Invest. 49, 2377-2386 (1970).
- 39) Chamberlain, D.A., Plasmadigoxin concentrations as a guide to therapeutics requirements. Biological effects of drugs in relation to their plasma concentration, p. 135, Ed. by Davis and Prichard, Mac Millan Great Britain (1973).
- 40) Shaw, T.R.D., M.R. Howard und J. Hamer, Lancet (1972), 2, 303-307.
- 41) Wagner, J.G., Proc. 113th Meeting Am. pharm. Assoc. Dallas (1966) ref. in (30).

- 42) Duncan, W.A.M., G. Mac Donald und M.J. Thornton,
J. Pharm. Pharmacol. 14, 217 (1962).
- 43) Shaw, T.R.D., J.E. Carless, M.R. Howard und K. Raymond,
Lancet (1973), 2, 209-210.
- 44) Jounela, A.J., P.J. Pentikäinen und A. Sothman,
Eur. J. Clin. Pharmacol. 8, 365-370 (1975).
- 45) Greenblatt, D.J., D.W. Duhme, J. Koch-Weser und T.W. Smith,
N. Engl. J. Med. (289), 651-654 (1973).
- 46) Huffman, D.H. und D.L. Azarnoff,
Am. Med. Ass. 222, 957-960 (1972).
- 47) Huffman, D.H., C.V. Manion und D.L. Azarnoff,
Clin. Pharm. Ther. 16, 310-317 (1974).
- 48) Huffman, D.H., C.V. Manion und D.L. Azarnoff,
J. Pharm. Sci. 64, 433-437 (1975).
- 49) Johnson, B.F. und C. Bye,
Br. Heart J. 37, 203-208 (1975).
- 50) Wagner, J.G., M. Christensen, E. Sakmar, D. Blair,
J.D. Yates, P.W. Willis, A.J. Sedman und R.G. Stoll,
J. Am. Med. Ass. 224, 199-204 (1973).
- 51) Nyberg, L., K.E. Andersson und A. Bertler,
Acta Pharm. Suec. 11, 471-492 (1974).
- 52) Ghirardi, P., G. Catenazzo, O. Mautero, G.C. Merotti
und A. Marzo,
J. Pharm. Sci. 66, 267-269 (1977).
- 53) Astorri, E., G. Bianchi. G. la Cauna, D. Assanelli,
O. Visioli und A. Marzo,
J. Pharm. Sci. 68, 104-106 (1979).
- 54) Longhini, C., V. Alvisi, B. Bagni, F. Portaluppi und
C. Fersini,
Curr. Therap. Res. 21, 909-912 (1978).

- 55) Alvisi, V., C. Longhini, B. Bagni, F. Portaluppi,
M. Ruina und C. Fersini,
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 29, 1047-1050 (1979).
- 56) Wagner, J.G., R.G. Stoll, D.J. Weidler, J.W. Ayres,
M.R. Hallmark, E. Sakmar und A. Yacobi,
J. Pharmacokinet. Biopharm. 7, 147-158 (1979).
- 57) Mallis, G.I., D.H. Schmidt, J. Lindenbaum,
Clin. Pharmacol. Ther. 18, 761-768 (1975).
- 58) Johnson, B.F., C. Bye, G. Jones und G.A. Sabey,
Clin. Pharmacol. Ther. 19, 746-751 (1976).
- 59) Marcus, F.I., J. Dickerson, S. Pippin, M. Stafford
und R. Bressler,
Clin. Pharmacol. Ther. 20, 253-259 (1976).
- 60) Binnion, P.F.,
J. Clin. Pharmacol. 16, 461-467 (1976).
- 61) DOS 2545973
Anmeldetag: 14.10.1975
Offenlegungstag: 29.04.1976.
- 62) DOS 2614864
Anmeldetag: 06.04.1976
Offenlegungstag: 13.10.1977.
- 63) DOS 2627533
Anmeldetag: 19.06.1976
Offenlegungstag: 29.12.1977.
- 64) Ollenschläger, G. und Th. Eckert,
Pharm. Ind. 39, 388-392 (1977).
- 65) Ammar, H.O., M.A. Kassem, H.A. Salama und M.S. El-Ridky,
Pharm. Ind. 42, 757-761 (1980).
- 66) Higuchi, T. und M. Ikeda,
J. Pharm. Sci. 63, 809-811 (1974).
- 67) Bochner, F., D.H. Huffman, D.D. Shen und D.L. Azarnoff,
J. Pharm. Sci. 66, 644-647 (1977).

- 68) Reddy, R.K., S.A. Khalil und M.W. Gouda,
J. Pharm. Sci. 65, 1753-1758 (1976).
- 69) Rietbrock, N.,
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 26, 135-146 (1976).
- 70) Lovering, E.G., M.L. Rowe und D.B. Black,
Can. J. Pharm. Sci. 12, 77-80 (1977).
- 71) DOS 2845326
Anmeldetag: 18.10.1978
Offenlegungstag: 24.04.1980.
- 72) Nürnberg, E. und A. Werthmann,
Pharm. Ind. 40, 1061-1069 (1978).
- 73) Nürnberg, E. und B. Dölle,
Vortrag anlässlich der Hauptversammlung der Deutschen
Pharmazeutischen Gesellschaft in Freiburg, Oktober (1981).
- 74) Manninen, V., A. Apajalahti, J. Melin und M. Karesoja,
Lancet (1973), 1, 398-400.
- 75) White, R.J., D.A. Chamberlain, M. Howard und T.W. Smith,
Br. Med. J. (1), 380-381 (1971).
- 76) Sanchez, N., L.B. Sheiner, H. Halkin und K.L. Melmon,
Br. Med. J. (4), 132-134 (1973).
- 77) Greenblatt, D.J., D.W. Duhme, J. Koch-Weser und T.W.
Smith,
Clin. Pharmacol. Ther. 16, 444-448 (1974).
- 78) Schwabe, L., N. Rietbrock und K.H. Frömming,
Pharm. Ind. 41, 1207-1212 (1979).
- 79) Heizer, W.D., T.W. Smith und S.E. Goldfinger,
N. Engl. J. Med. (285), 257-259 (1971).
- 80) Hall, W.H. und J.E. Doherty,
Am. J. Med. (56), 437-442 (1974).
- 81) Jusko, W.J., D.R. Conti, A. Molson, P. Kuritzky und
R. Schultz,
J. Am. Med. Ass. (230), 1554-1555 (1974).

- 82) Koup, I.R. und D.E. Tobias,
Drug Intell. Clin. Pharm. 8, 644-647 (1974).
- 83) Binnion, P.F.,
ref. in Clin. Pharmacokinet. 1, 36-51 (1976).
- 84) Khalil, S.A.,
J. Pharm. Pharmacol. 26, 961-967 (1974).
- 85) Khalil, S.A.,
J. Pharm. Sci. 63, 1641-1642 (1974).
- 86) Lindenbaum, J., R.M. Maulitz, J.R. Saha, N. Shea und
V.P. Butler,
Clin. Res. 20, 410 (1972).
- 87) Hartel, G., V. Manninen und P. Reisell,
Lancet (1973), 2, 158.
- 88) Albert, K.S., J.W. Ayres, A.R. Disanto, D.J. Weidler,
E. Sakmar, M.R. Hallmark, R.G. Stoll, K.A. de Saute
und J.G. Wagner,
J. Pharm. Sci. 67, 1582-1586 (1978).
- 89) Porubcan, L.S., G.S. Born, J.L. White und S.L. Hem,
J. Pharm. Sci. 68, 358-361 (1979).
- 90) Wückert, K. et al.,
86. Tagung der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin,
Wiesbaden, 13.-17. April 1980,
ref. in Dtsch. Apoth. Ztg. 120, 1367 (1980).
- 91) Hirsch, P. et al.,
Am. J. Cardiol. 46, 8863 (1980).
- 92) Kuhlmann, J., U. Abshagen und N. Rietbrock,
Naunyn-Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 276, 149-156 (1973).
- 93) Gault, M.H., J.D. Carless, D.L. Sugden und D.C. Kepkay,
J. Pharm. Pharmacol. 29, 27-32 (1977).
- 94) Störmer, A.,
Pharm. Unserer Zeit 1, 99-107 (1972).
- 95) Weiss, W. und W. Teufel,
Ther. d. Gegenw. 118, 884 (1979).

- 96) Rietbrock, N., J. Kuhlmann und H.F. Vöhringer,
in K. Hierholzer und N. Rietbrock, Hrsg., Physiologische
und pharmakologische Grundlagen der Therapie, S. 15-43,
Verlag Dr. med. Straube Erlangen (1977).
- 97) Krieger, M.,
Dissertation, Erlangen (1980).
- 98) Bleimüller, G.,
Dissertation, Erlangen (1980).
- 99) Hager,
Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Springer-Verlag
Berlin, Heidelberg, New York, 4. Ausgabe, Band 4, S. 556
(1973).
- 100) Stoll, A. und W. Kreis,
Helv. chim. Acta 16, 1049 (1933).
- 101) Luckner, M. und B. Diettrich,
Pharmazie 34, 477-481 (1979).
- 102) Beck, H.P.,
persönliche Mitteilung.
- 103) Auterhoff, H.,
Lehrbuch der Pharmazeutischen Chemie, 8. Auflage, S. 240,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart (1976).
- 104) Teuscher, E.,
Pharmakognosie 1, S. 148, Akademie Verlag, Berlin, Per-
gamon Press, Oxford, Vieweg & Sohn Braunschweig (1972).
- 105) Merck-Index,
9. Ausgabe, Merck & Co., Inc. Rahway, N.J., USA (1976).
- 106) Pohloudek-Fabini, R. und Th. Beyrich,
Organische Analyse, Akademische Verlagsgesellschaft,
Geest & Portig KG Leipzig (1975).
- 107) Florence, A.T. und E.G. Salole,
J. Pharm. Pharmacol. 28, 637-642 (1976).
- 108) Florence, A.T., E.G. Salole und J.B. Stenlake,
J. Pharm. Pharmacol. 26, 479-480 (1974).

- 109) Florence, A.T. und E.G. Salole,
J. Pharm. Pharmacol. submitted (1976).
- 110) Borka, L. und K. Backe-Hausen,
Acta Pharm. Suec. 5, 271-278 (1968).
- 111) Junginger, H.,
Dtsch. Apoth. Ztg. 116, 1880-1883 (1976).
- 112) Black, D.B. und E.G. Lovering,
J. Pharm. Pharmacol. 29, 684-687 (1977).
- 113) Chiou, W.L. und L.E. Kyle,
J. Pharm. Sci. 68, 1224-1229 (1979).
- 114) Johnson, B.F., P.V. Mc Auley, P.M. Smith und
J.A.G. French,
J. Pharm. Pharmacol. 29, 576-578 (1977).
- 115) Nürnberg, E.,
Habilitationsschrift Universität Marburg (1970).
- 116) Nürnberg, E.,
Pharm. Ind. 38, 74-82 und 228-232 (1976).
- 117) Haleblan, J. und W. Mc Crone,
J. Pharm. Sci. 58, 911-929 (1969).
- 118) Schenk, D.,
Acta Pharm. Tech. 25, 241-281 (1979).
- 119) Burzlaff, H. und H. Zimmermann,
Kristallographie, Band 1, S. 132, Georg Thieme Verlag
Stuttgart (1977).
- 120) Kuhnert-Brandstätter, M.,
Acta Pharm. Tech. 19, 73-90 (1973).
- 121) Schwartzman, G.,
J. Pharm. Pharmacol. 24, 169 (1972).
- 122) Summers, M.P., J.E. Carless und R.P. Enever,
J. Pharm. Pharmacol. 22, 615 (1970).
- 123) Gerst, F.,
Dissertation, Erlangen (1979).

- 124) Mayerson, M. und M. Gibaldi,
J. Pharm. Sci. 55, 1324 (1966).
- 125) Küssner, W., F. Reiff und H.W. Voigtlander,
Arch. Pharmaz. 288, 283 (1955).
- 126) Merck, Präparate für die Chromatographie, Firmen-
Broschüre.
- 127) Kuhnert-Brandstätter, M. und P. Gasser,
Mikrochem. J. (Wien) 16, 577 (1971).
- 128) Klug, H.P. und L.E. Alexander,
X-ray diffraction procedures, 2. Auflage, John Wiley
& Sons, New York, London, Sydney, Toronto (1974).
- 129) Alexander, L.E., H.P. Klug und E. Kummer,
J. Appl. Phys. (19), 742 (1948).
- 130) Krischner, H.,
Einführung in die Röntgenfeinstrukturanalyse, S. 16,
Vieweg-Verlag Braunschweig (1974).
- 131) de Wolff, P.M.,
Appl. Sci. Res., Sect. B 7, 102 (1958).
- 132) Brindley, G.W.,
Phil. Mag. 36, 347 (1945).
- 133) Krimm, S. und A.V. Tobolsky,
J. Polym. Sci. 7, 57 (1951).
- 134) Bonart, R., R. Hosemann, F. Motzkus und H. Ruck,
Norelco Reporter Bd. 7, Nr. 3 (1960).
- 135) Hendus, H. und G. Schnell,
Kunststoffe, Band 51 (2), 69-74 (1961).
- 136) Dudley, H.W. und I. Fleming,
Spektroskopische Methoden zur Strukturaufklärung,
4. Auflage, Georg Thieme-Verlag, Stuttgart (1979).
- 139) Greef, K.,
Therapiewoche 26, 4788-4795 (1976).
- 140) Greef, K., E. Kohler, H. Strobach und E. Verspohl,
Verh. Dtsch. Ges. Kreislaufforschg. 40, 301-305 (1976).

- 141) Takashi Sonobe, Shunji Hasumi, Takashi Yoshino,
Yoichi Kobayashi, Hiroitsu Kawata und Tsungi Nagai,
J. Pharm. Sci. 69, 410-413 (1980).
- 142) Sternson, L.A. und R.D. Schaffer,
J. Pharm. Sci. 67, 327-330 (1978).
- 143) Khalil, S.A. und S. El-Masry,
J. Pharm. Sci. 67, 1358-1360 (1978).
- 144) Treiber, E. und E. Schauenstein,
Z. Naturforsch. (4 b), 252 (1949).
- 145) Merckle, H.P.,
Habilitationsschrift Universität Heidelberg (1979).
- 146) Nogami, H., T. Nagai, A. Suzuki,
Chem. Pharm. Bull. 14, 329 (1966).
- 147) Nogami, H., T. Nagai und K. Ito,
Chem. Pharm. Bull. 14, 351 (1966).
- 148) Kuhnert-Brandstätter, M. und A. Burger,
Pharm. Ind. 34, 353-356 (1972).
- 149) Niebergall, P.J. und J.E. Goyan,
J. Pharm. Sci. 52, 29 (1963).
- 150) Kanke, M. und K. Sekiguchi,
Chem. Pharm. Bull. 21, 878-884 und 871-877 (1973).
- 151) Sekiguchi, K., M. Kanke, Y. Tsuda, K. Ishida und
Yoji Tsuda,
Chem. Pharm. Bull. 21, 1592-1600 (1973).
- 152) Salole, E.G. und A.I. Florence,
Drug Devl. Comm. 2, 141-149 (1976).
- 153) Beyer, C.,
Acta Pharm. Tech. 27, 61-63 (1981).
- 154) Kröll, K.,
Trockner und Trocknungsverfahren, 2. Auflage, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1978).

- 155) Kneule, F.,
Das Trocknen, Verlag Sauerländer Aarau und Frankfurt am
Main, 2. überarbeitete Auflage, 377-413 (1975).
- 156) Nürnberg, E.,
Acta Pharm. Tech. 26, 39-67 (1980).
- 157) Nürnberg, E.,
Prog. Colloid Polym. Sci. 59, 55-69 (1976).
- 158) Junginger, H.,
Habilitationsschrift Universität Braunschweig (1976).
- 159) Junginger, H.,
Pharm. Ind. 39, 383-388 und 498-501 (1977).
- 160) Kala, H., J. Traue, H. Moldenhauer und G. Zessin,
Pharmazie 34, 779-784 (1979).
- 161) Kala, H., J. Traue, H. Moldenhauer und G. Zessin,
Pharmazie 36, 106-111 (1981).
- 162) Ritschel, W.A.,
Pharm. Ind. 33, 612-615 (1971).
- 163) List, P.H.,
Arzneiformenlehre, 2. Auflage, Wissenschaftliche Ver-
lagsgesellschaft mbH Stuttgart (1980).
- 164) Kohl, P.,
Dissertation, Erlangen (1979).
- 165) Nikolics, K., S. Gál und J. Sztatisz,
Thermal Analysis 2, 467 (1974).
- 166) Schultze, D.,
Differentialthermoanalyse, Verlag Chemie Weinheim/Berg-
straße (1969).
- 167) Müller, J. und Th. Eckert,
Pharmazie 35, 471-473 (1980).
- 168) Hoffmann, M., H. Krömer und R. Kuhn,
Polymeranalytik II, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1977).
- 169) Summers, M.P. und R.P. Enever,
J. Pharm. Sci. 66, 825-282 (1977).

- 170) Hentze, G.,
Thermochim. Acta 15, 139-145 (1976).
- 171) Wunderlich, B.,
J. Appl. Phys. (35), 95 (1900).
- 172) Yeh, G.S.Y. und P.H. Geil,
J. Macromol. Sci. B 251-277 (1967).
- 173) Frank, W., H. Goddar und H.A. Stuart,
Polym. Lett. 5, 711-713 (1967).
- 174) Stuart, H.A.,
Physik der Hochpolymeren, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1955).
- 175) Schlichter, W.P.,
J. Polym. Sci. 35, 77 (1958).
- 176) Sigrist, K., G. Heinicke und U. Steiner,
Krist. Tech. 8, 393 (1973).
- 177) Schrader, R. und B. Hoffmann,
Z. Anorg. Allg. Chem. (369), 41 (1969).
- 178) Schrader, R. und O. Weigelt,
Z. Anorg. Allg. Chem. (372), 228 (1970).
- 179) Kratky, O.,
Z. Elektrochem. 58, 49-53 (1954).
- 180) Kratky, O.,
Z. Elektrochem. 62, 66-77 (1958).
- 181) Bonart, R.,
Kolloid Z. (213), 1 (1966).
- 182) Andrews, E.H.,
Proc. Roy. Soc. (London) A 277, 562 (1964).
- 183) Dismore, D.F. und W.O. Stratton,
J. Polymer Sci. B 2, 1116 (1964).
- 184) Martin, A.N., J. Swarbrick und A. Cammarata,
Physikalische Pharmazie, 2. Auflage, S. 81 und 398,
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart
(1980).

- 185) Schenk, D.,
Pharmazeutische Verfahrenstechnik heute 1, 41-46 (1981)
- Beilage der Dtsch. Apoth. Ztg. 121, (35) (1981) -.
- 186) Thorn, T.M.,
Dissertation, Marburg (1979).
- 187) Hopp, A.,
Dissertation, Erlangen (1981).
- 188) Heller, H.U.,
Dissertation, Erlangen in Vorbereitung.
- 189) Hoffmann, M., H. Krömer und R. Kuhn,
Polymeranalytik I, Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1977).
- 190) Loboda-Cackovic, R., R. Hosemann und H. Cackovic,
J. Mater. Sci. 6, 269 (1971).
- 191) Fuller, C.S. und W.O. Baker,
J. Am. chem. Soc. 65, 1120 (1943).
- 192) Kast, W.,
Angew. Chem. 67, 592-601 (1955).
- 193) Saupe, A.,
Angew. Chem. 80, 99-108 (1968).
- 194) Stegemeyer, H.,
Rheinisch-Westfälische Akademie der Wissenschaften,
Vorträge N 273, Westdeutscher Verlag, S. 44 (1978).
- 195) Steinsträßer, R.,
Kontakte (Firmenzeitschrift Merck) Heft 1 (1977).
- 196) Eckert, Th. und W.R. Cramer,
Pharm. Unserer Zeit 1, 117-121 (1972).
- 197) Brown, H.G.,
J. Coll. Interface Sci. 58, 534-558 (1977).
- 198) Sackmann, H. und D. Demus,
Mol. Cryst. 2, 81-102 (1966).
- 199) Gray, G.W. und P.A. Winsor,
Liquid Crystals & Plastic Crystals, Vol. 1, John Wiley &
Sons, Inc., New York, London, Sydney, Toronto (1974).

- 200) Kelker, H. und R. Hatz,
Handbook of Liquid Crystals, Verlag Chemie Weinheim
(1980).
- 201) Sackmann, H. und D. Demus,
Fortschr. chem. Forsch. Bd. 12, 2 (1969).
- 202) Friedel, G.,
Ann. Phys. (Paris) 18, 274 (1922).
- 203) Vorländer, D.,
Chemische Kristallographie der Flüssigkeiten, Akademi-
sche Verlagsgesellschaft mbH Leipzig (1924).
- 204) Gray, G.W. und P.A. Winsor,
Liquid Crystals & Plastic Crystals, Vol. 2, John Wiley &
Sons, Inc., New York, London, Sydney, Toronto (1974).
- 205) Bernal, J.D. und D. Crowfoot,
Trans. Faraday Soc. 29, 1032 (1933).
- 206) Billard, J. und R. Cerne,
Mol. Cryst. 2, 27-44 (1966).
- 207) Lippold, B.C.,
Einführung in die Biopharmazie, Deutscher Apothekerver-
lag Stuttgart (1974).
- 208) Demus, D. und L. Richter,
Textures of Liquid Crystals, Verlag Chemie Weinheim (1978).
- 209) Ritschel, W.A.,
Angewandte Biopharmazie, Wiss. Verlagsgesellschaft mbH
Stuttgart (1973).
- 210) Stricker, H.,
Pharm. Ind. 37, 446-451 (1975).
- 211) Speiser, P.,
Dtsch. Apoth. Ztg. 115, 389-397 (1975).
- 212) Ullmann, E. und L. Mansel,
Pharm. Ind. 36, 730-732 (1974).
- 213) Rupprecht, H., L. Mansel und E. Ullmann,
Pharm. Ind. 37, 22-23 (1975).

- 214) Lippold, B.C., L. Mansel und E. Ullmann,
Pharm. Ind. 37, 100-103 (1975).
- 215) Keipert, S., R. Voigt und K.H. Schwarz,
Pharmazie 34, 35-40 (1980).
- 216) Keipert, S. und R. Voigt,
Pharmazie 35, 52 (1980).
- 217) Ebian, A.R., M.A. Moustafa, S.A. Khalil und
M.M. Motawi,
J. Pharm. Pharmacol. 25, 13 (1973).
- 218) Mullins, J.D. und T.J. Macek,
J. Am. Pharm. Assoc., Sci. Ed. 49, 245 (1960).
- 219) Ravin, L.J., E.G. Shami und E. Rattie,
J. Pharm. Sci. 59, 1290 (1970).
- 220) Simonelli, A.P., S.C. Mehta und W.I. Higuchi,
J. Pharm. Sci. 59, 633-637 (1970).
- 221) Nürnberg, E. und P. Kohl,
Pharm. Ztg. 124, 523-529 (1979).
- 222) Kögel, J. und W. Horsch,
Pharmazie 33, 738-746 (1978).
- 223) Neumüller, O.A.,
Römpps Chemie-Lexikon, Band 1, 8. Auflage Franckh'sche
Verlagshandlung Stuttgart (1978).
- 224) Nürnberg, E. und B. Dölle,
Pharm. Ind. 42, 1019-1026 (1980).
- 225) Nürnberg, E. und B. Dölle,
Vortrag anlässlich der Hauptversammlung der Deutschen
Pharmazeutischen Gesellschaft in Hamburg (1979).
- 226) Chiou, W.L. und S. Riegelman,
J. Pharm. Sci. 60, 1281-1302 (1971).
- 227) Simonelli, A.P., S.C. Mehta und W.I. Higuchi,
J. Pharm. Sci. 58, 538-549 (1969).
- 228) Junginger, H.,
Acta Pharm. Tech. 23, 225-237 (1977).

- 229) Lapidus, H. und N.G. Lordi,
J. Pharm. Sci. 55, 840 (1966).
- 230) Lapidus, H. und N.G. Lordi,
J. Pharm. Sci. 57, 1292 (1968).
- 231) Black, D.B. und E.G. Lovering,
J. Pharm. Pharmacol. 30, 380 (1978).
- 232) Kuhlmann, J., U. Abshagen und N. Rietbrock,
Eur. J. clin. Pharmacol. 7, 87-94 (1974).
- 233) Hunter, E., R.T. Calvert und J.T. Fell,
J. Pharm. Pharmacol., Communications 30, 11 P (1978).
- 234) Ulex, G.A.,
Acta Pharm. Tech. 24, 77-86 (1978).
- 235) Thoma, K.,
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 26, 121 (1976).
- 236) Jost, R.,
Pharm. Ztg. 117, 953 (1972).
- 237) Egermann, H.,
Acta Pharm. Tech. 22, 131-141 (1976).
- 238) Johnson, M.C.R.,
Pharm. Acta Helv. 47, 546 (1972).
- 239) Nürnberg, E. und F. Gerst,
Dtsch. Apoth. Ztg. 116, 1875 (1976).
- 240) Manudhane, K.S., C.E. Hynniman und R.F. Shangraw,
Pharm. Acta Helv. 43, 257-263 (1968).
- 241) Sucker, H.,
Acta Pharm. Tech. 23, 153-171 (1977).
- 242) Steinigen, M. und B. Michelsen,
Pharm. Ztg. 124, 1677-1680 (1980).
- 243) Nyberg, L., K.E. Andersson und P.O. Fragerstrom,
Acta Pharm. Suec. 14, 119-136 (1977).
- 244) Avico, U., E.S. Siranni, P. Zuccaro, E. Cingolani,
F. Foschi und E. Pociaroni,
Boll. Chim. Farm. 115, 432-439 (1976).

- 245) Greenblatt, D.J., T.W. Smith und J. Koch-Weser,
Clin. Pharmacokinet. 1, 36-51 (1976).
- 246) Greenblatt, D.J., D.W. Duhmke, J. Koch-Weser und
T.W. Smith,
Clin. Res. 22, 318 A (1974).
- 247) Greenblatt, D.J., D.W. Duhmke, J. Koch-Weser und
T.W. Smith,
J. Am. Med. Assoc. (229) 1774-1776 (1974).
- 248) Shaw, T.R.D., M.R. Howard und J. Hamer,
Br. Heart J. 36, 400 (1974).
- 249) Lindenbaum, J., V.P. Butler, J.E. Murphy und R.M.
Cresswell,
Lancet (1973), 1, 1215.
- 250) Johnson, B.F., H. Greer, J. Mc Cerie, C. Bye und
A. Fowle,
Lancet (1973), 1, 1473.
- 251) Steward, M.J. und E. Simpson,
Lancet (1972), 2, 541.
- 252) Johnson, B.F. und S. Lader,
Br. J. Clin. Pharmacol. 1, 329-333 (1974).
- 253) Greenblatt, D.J., D.W. Duhme, J. Koch-Weser und
T.W. Smith,
J. Am. Med. Assoc. (229), 1774-1776 (1974).
- 254) Weyers, W., M. Meinecke und R. Brodbeck,
Pharm. Acta Helv. 54, 173-179 (1979).
- 255) Ariens, E.J.,
Clin. Pharmacol. Ther. 16, 155-175 (1974).
- 256) Vogt, W.,
Enzymimmunoassay, Grundlagen und praktische Anwendung,
Georg Thieme Verlag Stuttgart (1978).
- 257) Takaharu Mizutani,
J. Pharm. Sci. 69, 1226-1227 (1980).

- 258) Gastauer, R., M. Eltze und J. Pabst,
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 29, 754-757 (1979).
- 259) Gladtko, E. und H.M. von Hatingberg,
Pharmakokinetik, Springer Verlag Berlin, New York,
Heidelberg (1977).
- 260) Asmussen, B. und N. Heinz,
Arzneim.-Forsch./Drug Res. 30, 2168-2172 (1980).
- 261) Kramer, W.G., A.J. Kolibash, M.S. Bathala, J.A. Visconti, R.P. Lewis und R.H. Reuning,
J. Pharm. Sci. 66, 1720-1722 (1977).
- 262) Kramer, W.G. und R.H. Reuning,
J. Pharm. Sci. 67, 141-142 (1978).
- 263) Klink, P.R., R.I. Poust, J.L. Colaizzi und R.H. McDonald,
J. Pharm. Sci. 63, 1231-1234 (1974).
- 264) Nyberg, L., K.E. Andersson und A. Bertler,
Acta Pharm. Suec. 11, 459-470 (1974).
- 265) Meier, J., H. Rettig und H. Hess,
Biopharmazie, Georg Thieme Verlag Stuttgart (1981).
- 266) Smith, S.,
J. Chem. Soc. Band 1, 508-509 (1930).
- 267) Stahl, E.,
Dünnschicht-Chromatographie, 2. Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1967).

LEBENS LAUF

- 14.03.1951 : Geboren in Wanfried/Hessen als drittes Kind des selbständigen Handelsvertreters Heinrich Dölle und dessen Ehefrau Emilie Dölle, geb. Peters.
- 1957 - 1962 : Besuch der Grundschule in Wanfried.
- 1962 - 1967 : Besuch der Realschule in Wanfried.
- 1967 - 1968 : Besuch der Winfried-Schule in Fulda.
- 1968 - 1970 : Besuch des Gymnasiums Bad Sooden-Allendorf.
- 1970 - 1972 : Besuch der Gerhart-Hauptmann-Schule in Sontra.
- 15.06.1972 : Abitur an der Gerhart-Hauptmann-Schule, Sontra.
- Juli 1972 - : Krankenpflegepraktikum am Kreiskrankenhaus
Sept. 1972 in Eschwege.
- WS 1972/73 : Chemie-Studium an der Technischen Hochschule in Darmstadt.
- SS 1973 - : Pharmazie-Studium an der Friedrich-Alexander-
SS 1977 Universität in Erlangen.
- 25.09.1975 : Erster Prüfungsabschnitt nach der Approbationsordnung für Apotheker.
- 07.11.1977 : Zweiter Prüfungsabschnitt nach der Approbationsordnung für Apotheker.
- 15.11.1977 -: Pharmazie-Praktikant in der Adler-Apotheke
31.07.1978 in Bad Windsheim.
- ab : Doktorand und wiss. Mitarbeiter bei Herrn
01.08.1978 Prof. Dr. E. Nürnberg am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie, Lehrstuhl für Pharmazeutische Technologie.
- 06.12.1978 : Pharmazeutische Staatsprüfung in München.
- 15.01.1979 : Approbation als Apotheker.
- ab : Von der Universität Erlangen-Nürnberg mit
01.08.1979 den Dienstgeschäften eines Akademischen Rates auf Zeit betraut.

Copy - Center 2000

852 ERLANGEN - Obere Karlstr. 30
Tel. 09131-26197